

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

Université de Blida institut de vétérinaires

---

Année 2018



ETUDE BIBLIOGRAPHIQUES SUR LA  
CRYPTOSPORIDIOSE CHEZ LES CHEVREUX

Mémoire

Pour le

DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

Le 25 JUIN 2018

Par

Hezla Mohammed Fawzi

Née le 28 Septembre 1991 à M'Sila

JURY

Président : Dr kaaboub elaid

Examineurs : Dr basbasi mohamed

Promoteur : Dr Dahmani Hichem

# Remerciement

*Je m'adresse en premier lieu mon reconnaissance à notre DIEU tout puissant, de me donner la santé et la volonte d'entamer et de terminer ce mémoire.*

*Je tien tous d'abord tous mes remerciements et ma sincère reconnaissance à notre Chef d'institue : lafri mohamed , qui a bien prodiguer ses précieux conseils et de son aide pour tout ce qu'ils avaient besoin.*

*Je m'adresse le grand remerciement à mon Promoteur Monsieur : Dahmani Hichem, pour ses conseils, son soutiens moral sa présence et ses dirigés du début à la fin de ce travail.*

*Je ne pourrais continuer ces remerciements sans me tourner vers mon Président du jury Monsieur : kaaboub elaid, je vous remercie très sincèrement pour le grand honneur que vous m'avez fait de bien vouloir présider mon jury, Mercie avoir accepté de juger ce travail.*

*Je suis conscient de l'honneur que tu m'as fait le membre du jury: Basbasi mohamed, d'avoir accepté d'examiner mon travail.*

*Mes remerciements s'adressent également à tous nos Professeurs pour leurs générosités et la grande patience dont ils ont su faire preuve malgré leurs charges académiques et professionnelles.*

# DEDICACE

*Je dédie ce modeste travail à ma chère et douce mère, à mon cher père, pour lesquels je prie Dieu Tout Puissant afin qu'il leurs accorde santé et longue vie, pour leur amour, soutien et assistance dans tous les projets de ma vie.*

*Je voudrais aussi remercier ma femme Naila, pour sa patience, son écoute, son soutien malgré tous les imprévus et les moments durs. Par-dessus tout, de me supporter, Merci de m'avoir fait l'honneur d'être ma femme*

*Comme je le dédie à mes chers frères El hachemi et Lamine, sans oublier le charme et la joie de la famille mes sœurs bienaimées manel et Fadia et la petite Selma.*

*A ma deuxième famille Talbi Mhamed et Sdara Amel, pour mes demi-frères : Amine, Aiham et Akmal (kouki) et mes demis sœurs: Chahra et Salima.*

*A mes amis pour leurs encouragements et leur présence positive :*

*Mourad, Slimane, Sife, Abdelkader, Mahedi, Sbaa, Walid, Moustapha, Aissa, moustapha sidiki , islame , khalili et à toute la promotion de la 5ème année vétérinaire : 2014-2015*

# TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION.....	12
1. Biologie des cryptosporidies .....	13
1.1 Historique.....	13
1.2 Taxonomie.....	14
1.3. Cycle évolutif.....	16
1.3.1. Caractéristiques.....	16
1.3.2. Déroulement du cycle .....	17
1.3.2.1. Excystation .....	17
1.3.2.2. Mérogonie (anciennement dénommée schizogonie) .....	17
1.3.2.3. Gamétogonie.....	18
1.3.2.4. Sporogonie ou sporulation.....	19
1.3.3. Particularités du cycle de <i>Cryptosporidium</i> .....	19
1.3.4. Position dans la cellule-hôte .....	20
1.4. Propriétés de l'oocyste .....	20
1.4.1. Structure .....	20
CHAPITRE 2 : Epidémiologie .....	22
2.1. Sources de parasites .....	23
2.3. Résistance des oocystes .....	23
2.3.1. Mesure de la viabilité et de l'infectiosité des oocystes.....	23
2.3.1.1. Viabilité des oocystes .....	23
2.3.1.2. Infectiosité des oocystes.....	24
2.3.2. Résistance dans l'environnement .....	24
2.3.2.1 Résistance dans l'eau .....	24
2.3.2.2. Résistance hors de l'eau .....	25
2.3.3. Résistance aux procédés de désinfection .....	26

2.4. Critères de sensibilité de l'hôte .....	26
2.4.1. L'espèce.....	26
2.4.2. La race .....	26
2.4.3. L'âge .....	26
2.4.4. Le statut immunitaire .....	26
2.5. Facteurs de risque .....	27
2.5.1. La saison .....	27
2.5.2. La densité animale .....	27
2.5.3. La conduite d'élevage .....	27
2.5.4. Le rôle de l'épandage du fumier .....	28
2.6. Relation hôte-parasite .....	29
2.6.1. Pathogénie .....	29
2.6.2. Réponse immunitaire à l'infection à <i>Cryptosporidium</i> .....	30
2.6.3. Signes cliniques .....	31
2.6.4. Lésions .....	32
CHAPITRE 3 : Diagnostic ET Lutte.....	33
3.1. Diagnostic.....	34
3.1.1. Diagnostic épidémiologique et clinique.....	34
3.1.2. Diagnostic différentiel.....	34
3.1.3. Diagnostic de laboratoire.....	35
3.1.3.1. Microscopie conventionnelle.....	35
3.1.3.2. Méthodes de concentration.....	36
3.1.3.3. Méthodes de coloration.....	36
3.1.3.4. Méthodes d'immunomarquage.....	38
3.1.3.5. Cytométrie de flux.....	39
3.1.4. Diagnostic de biologie moléculaire.....	39

3.1.5. Diagnostic histologique.....	39
3.1.6. Critères de choix d'une méthode diagnostique.....	41
3.1.7. Détection de cryptosporidies dans l'eau et les aliments.....	42
3.1.7.1. Détection dans l'eau.....	42
3.1.7.2. Détection dans les aliments .....	43
3.2. Traitements.....	43
3.2.1 Mesures de lutte spécifiques.....	43
3.2.1.1. Lactate d'halofuginone.....	43
3.2.1.2. paromomycine ... ..	44
3.2.1.3. Lasalocide.....	45
3.2.1.4. Decoquinate.....	46
3.2.2. Mesures de lutte non spécifiques.....	47
3.2.2.1. Le régime alimentaire.....	47
3.2.2.2. La réhydratation.....	47
3.2.2.3. Les anti-inflammatoires.....	47
3.2.2.4. Les modificateurs digestifs.....	47
3.2.2.5. Les antibiotiques.....	48
3.3. Prophylaxie.....	48
3.3.1. Prophylaxie hygiénique .....	48
3.3.1.1. Mesures de désinfection.....	48
3.3.1.2. Mesures de protection.....	49
3.3.1.2. Gestion du troupeau.....	49
3.3.2. Prophylaxie médicale.....	50
CONCLUSION.....	51
BIBLIOGRAPHIE.....	52

# ETUDE BIBLIOGRAPHIQUES SUR LA CRYPTOSPORIDIOSE CHEZ LES CHEVREUX

## Résumé

La cryptosporidiose est une maladie causée par un parasite protozoaire du genre *Cryptosporidium* qui affecte de très nombreuses espèces du règne animal dont l'Homme. Elle est généralement responsable d'une gastro-entérite parfois fatale chez les individus immatures immunologiquement ou immunodéprimés. Autrefois considéré comme opportuniste, *Cryptosporidium* est aujourd'hui considéré comme un agent pathogène majeur dans les élevages en raison de son incidence, de son importance économique et de son pouvoir zoonotique.

Depuis les années 1980, de nombreux efforts pour développer des traitements efficaces contre la cryptosporidiose ont été faits, avec des résultats limités. Les principales difficultés rencontrées reposent sur la position particulière du parasite dans la cellule-hôte qui le protège de l'action de nombreux composés chimiques mais également sur l'âge d'infestation des jeunes animaux qui rend inefficace une vaccination, même précoce, de ces derniers.

Cependant, quelques molécules ont démontré une action intéressante *in vivo* dans le traitement de la maladie tandis que l'immunisation des femelles gestantes constitue une alternative à la vaccination en garantissant une protection des jeunes par le biais du colostrum dit hyper immun.

**Mots clés :** CRYPTOSPORIDIOSE, PROTOZOAIRE, CRYPTOSPORIDIUM, ZOONOSE.

# BIBLIOGRAPHIC STUDY IN CRYPTOSPORIDIOSIS CHEVREUX

## Summary

Cryptosporidiosis is a disease caused by a protozoan parasite *Cryptosporidium* which affects many animal species including humans. Usually it is responsible for a gastroenteritis occasionally lethal in immature or immunodepressed individuals. It has been considered as an opportunistic agent for years but nowadays it appears to be a major pathogen in livestock due to its incidence, economic losses and zoonotic potential.

Since the 1980s, many efforts to develop efficient treatments against cryptosporidiosis have been made with limited results. The main difficulties appear to be the parasite specific location in host cells which protects it from chemical compounds and the age susceptibility of infection so even an early vaccination is inefficient in young animals.

However, a few molecules have demonstrated an interesting activity *in vivo* while the immunization of pregnant females is a good option to protect the neonates through hyperimmune colostrum.

**Keywords :** CRYPTOSPORIDIOSIS, PROTOZOAN, CRYPTOSPORIDIUM, ZOONOSIS



# دراسة نظرية حول الكريبتوسبيروديا عند الحملان

## الملخص

الكريبتوسبيروديا هو مرض يسببه طفيلي من جنس خفية الأبواغ التي تؤثر على العديد من أنواع الحيوانات بما في ذلك البشر. وهي مسؤولة عموماً عن التهاب المعدة والأمعاء قاتلة في بعض الأحيان في الأفراد كبت المناعة أو غير ناضجة مناعياً ، ويعتبر الكريبتوسبورديوم الآن الممرض الرئيسي في الرعي بسبب تأثيرها وأهميتها الاقتصادية وقوتها الحيوانية المنشأ. في البشر، وقد تم الإبلاغ عن العديد من الأوبئة في جميع أنحاء العالم من خلال استهلاك الماء أو الطعام الملوث.

منذ 1980، العديد من الجهود لتطوير علاجات فعالة ضد الكريبتوسبيروديا بذلت، مع نتائج محدودة. تستند الصعوبات الرئيسية على موقف معين من الطفيليات في الخلية المضيفة الذي يحمي من العمل من المركبات الكيميائية كثيرة ولكن أيضاً سن العدوى للحيوانات الصغرى مما يجعل التطعيم غير فعالة حتى في وقت سابق.

ومع ذلك، فقد أظهرت بعض الجزيئات في الجسم الحي عمل مثيرة للاهتمام في علاج هذا المرض في حين أن تحصين الإناث الحوامل هو بديل لتطعيم ضمان حماية الصغرى.

**كلمات المفتاح:** الكريبتوسبيروديا، الكريبتوسبورديوم، حيواني المنشأ

# Liste des figures

Figure 1 : Représentation schématique du cycle évolutif de <i>Cryptosporidium</i> spp. dans l'intestin grêle, montrant les étapes "intracellulaires" et extracellulaires connues (Source personnelle).	16
Figure 2 : Image au microscope électronique de trophozoïtes de <i>Cryptosporidium</i> localisés entre les microvillosités de cellules épithéliales intestinales de porc (Source : NATIONAL AGRICULTURE AND FOOD RESEARCH ORGANIZATION (NARO)).	17
Figure 3 : Image au microscope électronique d'un trophozoïte en cours de mérogonie ou méronie immature (Source : KOREAN JOURNAL OF PARASITOLOGY (KJP))	18
Figure 4 : Image au microscope électronique d'un macrogamonte (Source : NARO).	18
Figure 5 : Image au microscope électronique d'un oocyste et de deux sporozoïtes matures (Source : KJP).	19
Figure 6 : Modèle de la structure en 4 couches de la paroi d'un oocyste de <i>C. Parvum</i> (Source : JENKINS et al. 2010).	21
Figure 7 : Arrière-train souillé d'un chevreau atteint de cryptosporidiose (Source : GHECHAM sur le site internet VETOFOCUS).	32
Figure 8 : Coloration d'oocystes de <i>Cryptosporidium</i> à l'auramine-rhodamine (Source : CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC)).	37
Figure 9 : Coloration d'oocystes de <i>Cryptosporidium</i> à la fuschine (Source : MEYUS sur le site internet VETOFOCUS).	37
Figure 10 : Image d'oocystes de <i>Cryptosporidium</i> (en haut à gauche) révélés par des anticorps immunofluorescents (Source : CDC).	38
Figure 11 : Coupe histologique colorée à l'Hémalin-Eosine-Safran d'un intestin parasité par <i>Cryptosporidium parvum</i> (Source : NARO).	40
Figure 12 : Seuils de détection des différentes techniques de laboratoire (Chartier C., <i>Contrôle de la cryptosporidiose des ruminants</i> . Le Point Vétérinaire, 2000.)	41
Figure 13 : Image obtenue par la technique de microscopie à contraste interférentiel (Source : CDC)	42

# Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification taxonomique de <i>Cryptosporidium spp.</i> (Adapté d'O'DONGHUE, 1995 et LECONTE, 2013). .....	14
Tableau 2, observée à partir des examens de raclages de muqueuses et ceux des sections histologiques (Adapté d'O'DONGHUE, 1995 et LECONTE, 2013).....	41

# Liste des abréviations

ACBP : Acyl-CoA-Binding Protein  
AINS : Anti Inflammatoires Non Stéroïdiens  
AMM : Autorisation de Mise sur le Marché  
COWP-PCR : Cryptosporidium oocyst wall protein PCR  
CpCDPK1 : Calcium-Dependent Protein Kinase-1 from Cryptosporidium parvum  
CPCs : Concentrateurs Paraboliques Composés  
DAPI : 4,6, DiAmidino-2' - PhenylIndole  
DHFR : DiHydroFolate Réductase  
EGF : Epidermal Growth Factor  
EIA : Enzyme ImmunoAssay  
ELISAs : Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assays  
FDA : Food and Drug Administration  
FISH : Fluorescent In Situ Hybridization  
FPP : Farnesyl PyroPhosphate synthase  
HAART : Highly Active AntiRetroviral Therapy  
HACCP : Hazard Analysis Critical Control Point  
HCT-8 : Human ileocecal adenocarcinoma cells  
HVB1 : HerpesVirus Bovin 1  
IC50 : Half maximal Inhibitory Concentration  
ICZN : International Code for Zoological Nomenclature  
IMPDH : Inosine 50-MonoPhosphatase DeHydrogenase  
L-NAME : L-NG-NitroArginine Methyl Ester  
MDBK : Mardin Darby Bovine Kidney  
MICI : Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin  
MPO : MyéloPérOxydase  
NPPPS : Nonspecific Polyprenyl PyroPhosphate Synthase  
OPG : Oocystes Par Gramme de fèces  
PCR : Polymerase Chain Reaction  
PFOR : Pyruvate Ferredoxin OxidoReductase  
PI : Propidium Iodide  
RFLP-PCR : Restriction Fragment Length Polymorphism-PCR  
RPH : Reverse Passive Haemagglutination  
RT-PCR : Reverse-Transcription PCR  
SAF : Sodium Acetate – acetic acid – Formaldehyde  
SAHH : S-AdénosylHomocystéine Hydrolase  
SAM : S-AdénosylMéthionine  
SCID : Severe Combined ImmunoDeficiency  
(S)-DHPA : (S)-9-(2,3-DiHydroxyPropyl)-Adenine  
SIDA : Syndrome de l'ImmunoDéfiance Acquise  
SRAS : Syndrome Respiratoire Aigu Sévère  
VIH : Virus de l'Immunodéfiance Humaine

# INTRODUCTION

---

*Cryptosporidium* spp. Est un protozoaire parasite du tube digestif de nombreux vertébrés y compris l'homme et les ruminants domestiques. Son cycle comprend une phase parasitaire au cours de laquelle des multiplications intenses conduisent l'émission dans les matières fécales des éléments infectieux, les oocystes.

La transmission se fait par voie fécale-orale par contact direct entre hôtes ou de façon indirecte via l'eau ou les aliments souillés.

La maladie qui résulte de l'infection, appelée cryptosporidiose, s'exprime par une atteinte digestive (entérite) aussi bien chez l'homme que chez l'animal.

Cette maladie est ubiquitaire et revêt une importance en santé publique et en santé animale, ces 2 aspects étant liés par l'existence d'espèces zoonotiques. L'espèce zoonotique prépondérante est *Cryptosporidium parvum* et les ruminants nouveaux-nés sont considérés comme la source la plus importante d'isolats zoonotiques de *C.parvum*

L'objectif est de fournir des données d'épidémiologie descriptive et moléculaire sur la cryptosporidiose des ruminants qui permettront de développer des moyens rationnels de prévention et de contrôle. Au travers d'études épidémiologiques descriptives et analytiques réalisées parallèlement par l'équipe de parasitologie, la caractérisation quantitative et qualitative de l'émission d'oocystes de *Cryptosporidium* spp sera réalisée par des approches longitudinale et transversale, principalement chez les bovins, mais intégrera également de manière plus ponctuelle les ovins et les caprins.

Plus précisément, la caractérisation moléculaire des isolats de *Cryptosporidium* spp hébergés par les ruminants permettra de mieux cerner la circulation des différentes espèces au sein des populations de ruminants et de déterminer le potentiel zoonotique des oocystes émis en s'attachant en particulier au génotypage infra spécifique de *C. parvum*.

# 1. Biologie des cryptosporidies

## 1.1 Historique

La présence de *Cryptosporidium spp* a été mise en évidence dans les années 1970 chez les ruminants. Ceux-ci constituent le groupe d'espèces, parmi les mammifères, le plus concerné par la cryptosporidiose avec l'espèce humaine.

Les espèces infectant de manière naturelle les ruminants domestiques sont au nombre de 7 : *C. parvum*, *C. andersoni*, *C. bovis*, *C. ryanae*, *C. hominis*, *C. xiaoi* et *C. ubiquitum* ; d'autres espèces ou génotypes infectant les ruminants uniquement de manière exceptionnelle. Parmi les espèces citées, seule *C. bovis* n'est pas capable d'infecter l'homme (CHARTIER et PARAUD, 2010).

*Cryptosporidium parvum* a été la première espèce décrite en 1912 par Tyzzer. Cependant, pendant de nombreuses années, cette appellation a regroupé toutes les espèces du genre *Cryptosporidium spp* possédant de petits oocystes expliquant ainsi que *C. parvum* ait été retrouvé chez plus de 150 espèces différentes (CAREY *et al*, 2004). Aujourd'hui, grâce aux techniques de biologie moléculaire, un certain nombre d'espèces ont été individualisées et différenciées de *C. parvum*. *Cryptosporidium parvum* possède un pouvoir zoonotique d'où son importance en santé publique (FAYER, 2010 ; XIAO, 2010).

*Cryptosporidium andersoni* est une espèce présentant des oocystes de grande taille (CAREY *et al*, 2004), elle parasite l'abomasum des ruminants. Elle est rarement retrouvée chez les jeunes de moins de 2 mois mais plus généralement chez des animaux plus âgés. Cependant son pouvoir pathogène serait faible, de même que son pouvoir zoonotique (LINDSAY *et al*, 2000(a) ; XIAO, 2010).

*Cryptosporidium bovis* est une espèce infectant les animaux sevrés (SANTIN *et al*., 2004). Les hôtes majeurs sont les bovins tandis que les ovins sont des hôtes mineurs et les caprins très rarement atteints (XIAO, 2010). Les animaux atteints ne présentent pas de signes cliniques et le pouvoir zoonotique de l'espèce est très faible (FAYER *et al*, 2008 ; CHARTIER et PARAUD, 2010).

*Cryptosporidium ryanae*, anciennement dénommée *Cryptosporidium* « deer-like », cette espèce atteint uniquement les bovins et le plus souvent les bovins sevrés (SANTIN *et al*, 2004). L'infection par *C. ryanae* ne provoque que peu de signes cliniques et le pouvoir zoonotique reste faible (FAYER *et al*, 2008 ; CHARTIER et PARAUD, 2010).

*Cryptosporidium xiaoi*, anciennement dénommée *Cryptosporidium* génotype «bovis-like», cette espèce est rencontrée chez le mouton à diverses périodes de la vie (FAYER et SANTIN, 2009)

Cependant une étude de DIAZ *et al*. (2010) montre qu'elle pourrait être responsable de diarrhée chez des chevreaux.

*Cryptosporidium ubiquitum*, autrefois connue sous le nom de *Cryptosporidium* génotype « cervine » (FAYER *et al.*, 2010), cette espèce a été rencontrée aussi bien chez des ruminants domestiques et sauvages que chez les humains, et d'autres espèces animales à travers le monde.

D'après certaines études, elle serait même l'espèce prédominante chez le mouton dans certains pays (PARAUD et CHARTIER, 2012) cependant ce fait a été remis en cause par des études menées en Espagne et en Grande-Bretagne où *C. parvum* est apparu être le pathogène dominant chez les agneaux (XIAO et FAYER, 2008 ; XIAO, 2010).

## 1.2 Taxonomie

*Cryptosporidium* est un parasite de l'embranchement des Apicomplexa, sa position dans classification reste complexe et soumise à des évolutions avec la progression de la recherche. Son cycle de développement particulier avec la production d'oocystes incroyablement

**Tableau 1** présente la classification taxonomique de *Cryptosporidium spp.* telle qu'elle est admise à l'heure actuelle. (Adapté de O'DONGHUE, 1995 et LECONTE, 2013)

Classification	Nom	Caractéristiques
Hyper-royaume	<i>Eucaryote</i>	- Cellule dont le contenu est divisé en zones ayant des fonctions définies
Royaume	<i>Protiste</i>	- Eucaryote unicellulaire
Superphylum	<i>Alveolata</i>	- Présence d'alvéoles (systèmes d'espaces péribasaux sous-membranaires)
Phylum	<i>Apicomplexa</i>	- Toutes les espèces sont des parasites - Présence d'un complexe apical
Classe	<i>Sporozoasida</i>	- Reproduction sexuée et asexuée - Production d'oocystes

Sous-classe	<i>Coccidiasina</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Cycle de développement faisant intervenir les stades schizogonie, gamétogonie et sporogonie</li> <li>- Présence de gamontes de petite taille</li> </ul>
Ordre	Eucoccidiorida	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Présence des stades mérogonie et schizogonie</li> </ul>
Sous-ordre	<i>Eimeriorina</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Développement indépendant des macrogamètes et des microgamètes</li> <li>- Zygote non mobile</li> </ul>
Famille	<i>Cryptosporidiidae</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Oocystes contenant 4 sporozoïtes nus</li> <li>- Stades endogènes comportant un organelle d'attachement</li> <li>- Cycle de développement monoxène</li> </ul>
Genre	<i>Cryptosporidium</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Développement intracellulaire mais extracytoplasmique</li> <li>- Microgamètes non flagellés</li> <li>- Très grande prolificité</li> <li>- Oocystes atypiques possibles</li> <li>- Absence de spécificité pour certaines espèces</li> </ul>



## 1.3. Cycle évolutif

### 1.3.1. Caractéristiques

Toutes les espèces de *Cryptosporidium* 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 (O'DONOGHUE, 1995).

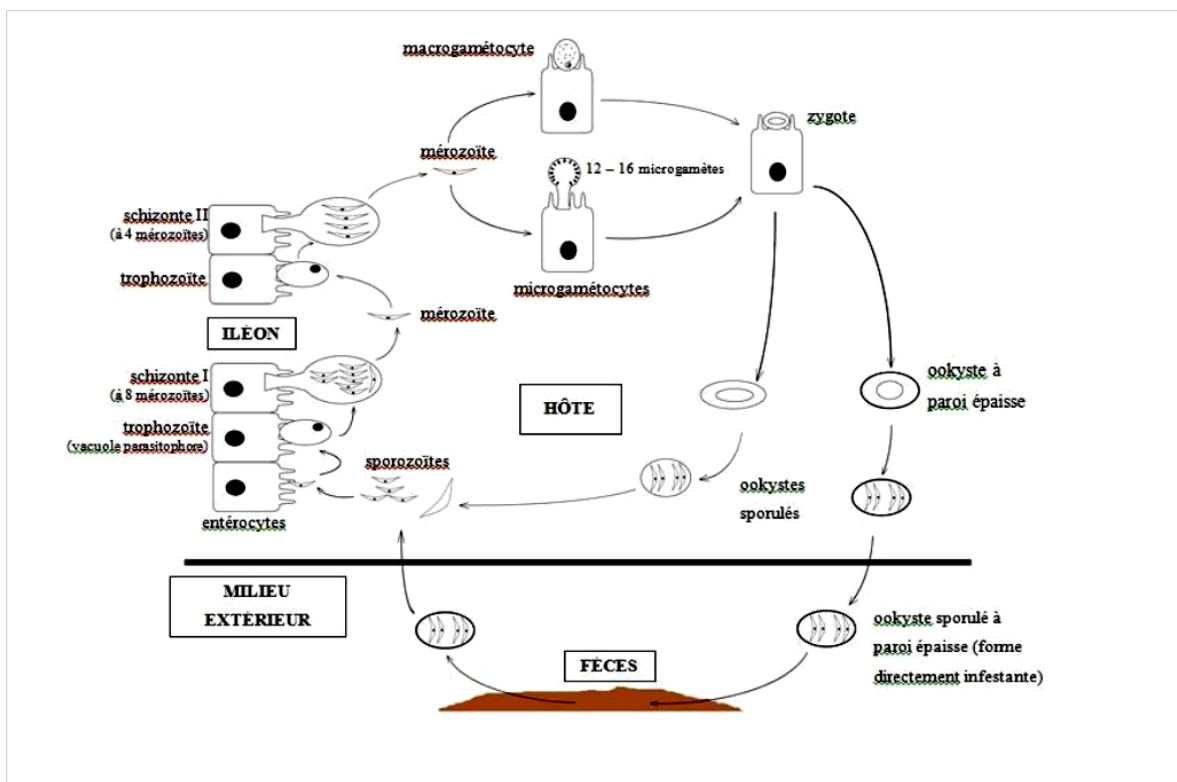
Le cycle se déroule dans les cellules épithéliales de l'intestin ou du tractus gastro-intestinal plus généralement, cependant des localisations erratiques sont possibles comme l'arbre respiratoire, la vésicule biliaire, le foie ou le pancréas (FAYER, 2004).

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 (O'DONOGHUE, 1995 ; FAYER, 2004).

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'immuno-compétence de l'hôte et de l'espèce de *Cryptosporidium* incriminée (O'DONOGHUE, 1995).

L'oocyste est le seul stade parasite retrouvé dans l'environnement. Après son ingestion par l'hôte, le cycle se déroule en différentes étapes illustrées et décrites par la **Figure 1**.

**Figure 1** : Représentation schématique du cycle évolutif de *Cryptosporidium* spp. Dans l'intestin grêle, montrant les étapes "intracellulaires" et extracellulaires connues (Source personnelle).



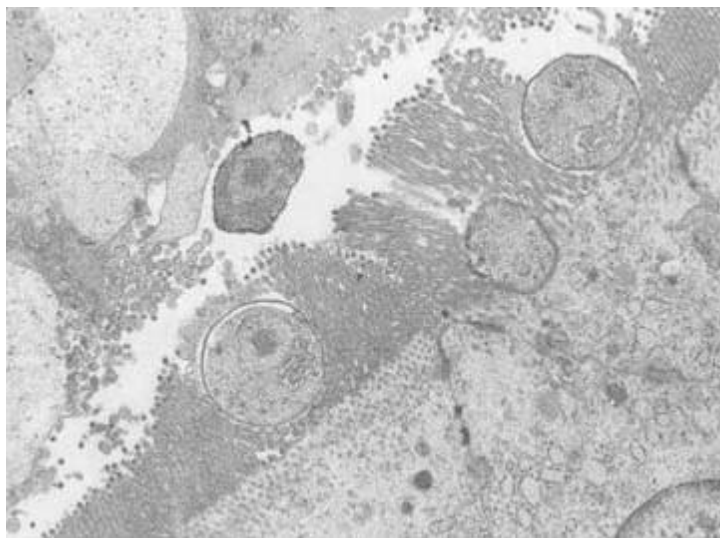
## 1.3.2. Déroulement du cycle

### 1.3.2.1 .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 alors à la membrane apicale de la cellule épithéliale de la bordure en brosse et forment un trophozoïte (**Figure 2**) en s'enfermant dans une vacuole parasitophore qui lui confère une position intracellulaire mais extracytoplasmique. Le trophozoïte ainsi formé possède des organelles d'attachement avec le cytoplasme de la cellule-hôte participant notamment à sa nutrition (O'DONOGHUE, 1995 ; CHALMERS et DAVIES, 2010).

**Figure 2** : Image au microscope électronique de trophozoïtes de *Cryptosporidium* localisés entre les microvillosités de cellules épithéliales intestinales de porc (Source : NATIONAL AGRICULTURE AND FOOD RESEARCH ORGANIZATION (NARO)).

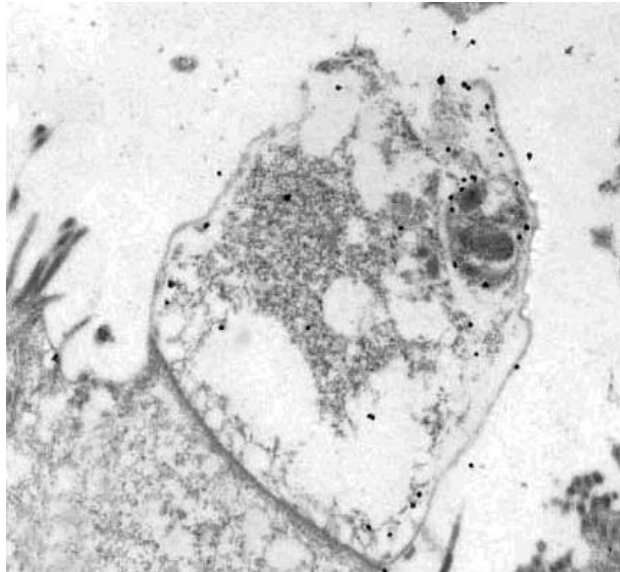


### 1.3.2.2. Mérogonie (anciennement dénommée schizogonie)

La première génération de reproduction asexuée transforme les trophozoïtes en mérontes ou schizontes de type I contenant chacun 6 ou 8 mérozoïtes arrangés parallèlement les uns aux autres (**Figures 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 type II contenant 4 mérozoïtes (2ème génération de la reproduction asexuée), soit ils peuvent initier un cycle auto-infectieux reformant des mérontes de type I (O'DONOGHUE, 1995 ; CHALMERS et DAVIES, 2010). 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

**Figure 3 :** Image au microscope électronique d'un trophozoïte en cours de Mérogonie ou méronte immature (Source : KOREAN JOURNAL OF PARASITOLOGY (KJP)).

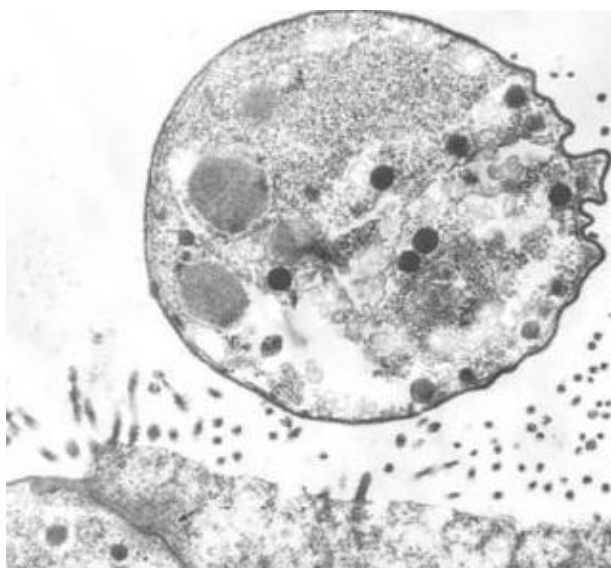


### ***1.3.2.3. Gamétogonie***

Libérés puis envahissent de nouvelles cellules épithéliales se différenciant en microgamontes mâles ou en macrogamontes femelles, illustrés sur les Figures 4.

Le microgamonte mâle produit jusqu'à 16 microgamètes 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 (O'DONOGHUE, 1995 ; CHALMERS et DAVIES, 2010).

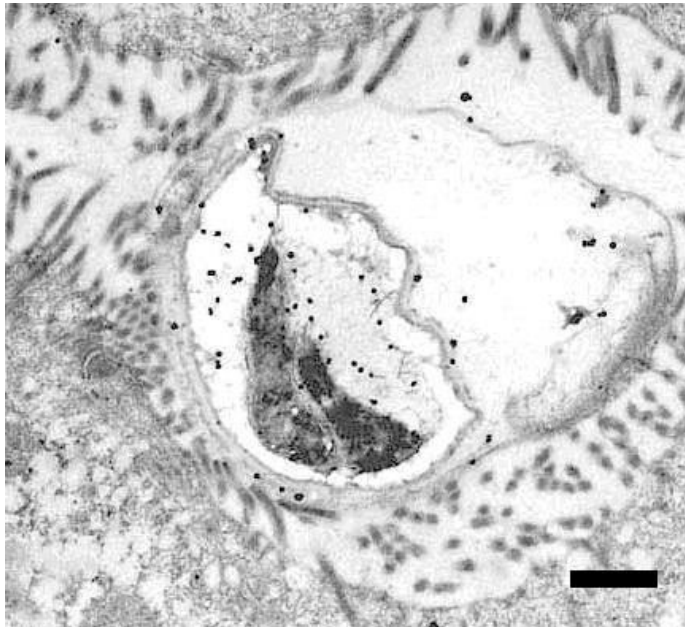
**Figure 4 :** Image au microscope électronique d'un macrogamonte (Source : NARO).



#### ***1.3.2.4. 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 sporozoïtes (Figure 5). 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 sporozoïtes 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 (O'DONOGHUE, 1995 ; CHALMERS et DAVIES, 2010).

**Figure 5** : Image au microscope électronique d'un oocyste et de deux sporozoïtes matures (Source : KJP).



#### ***1.3.3. Particularités du cycle de Cryptosporidium***

L'existence d'une auto-infestation à partir du recyclage des mérontes de type I et des oocystes à paroi fine serait à l'origine du caractère chronique de la maladie chez certains individus sans que ceux-ci ne soient en contact avec des oocystes d'origine exogène (O'DONOGHUE, 1995 ; CHALMERS et DAVIES, 2010 ; CHARTIER et PARAUD, 2010).

Le cycle du parasite est court et permet une surinfection de l'hôte de même qu'une libération massive d'oocystes à paroi épaisse dans le milieu extérieur à l'origine d'une infection rapide de nouveaux hôtes.

### **1.3.4. 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.

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.

Cependant *Cryptosporidium* 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.

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.

La localisation très protégée de *Cryptosporidium* 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 (O'DONOGHUE, 1995).

## **1.4. Propriétés de l'oocyste**

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

### **1.4.1. Structure**

L'oocyste est de forme variable, ovoïde à elliptique, et mesure entre 4,5 et 7,9 µm de long pour 4,2 à 6,5 µm de large (O'DONOGHUE, 1995).

**La paroi de l'oocyste est constituée de 4 couches (Figure 6) :**

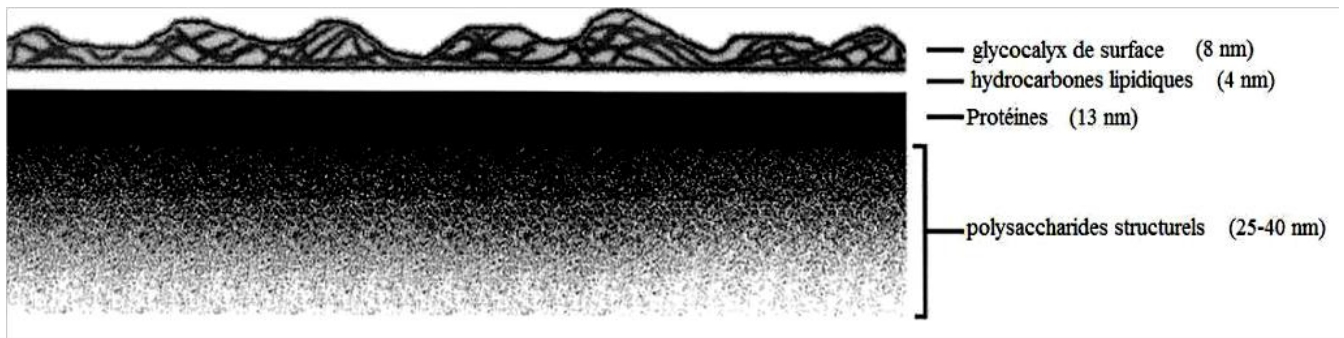
1- La couche externe, le glycocalyx, est principalement composée de sucres. Cette structure apparaît dense aux électrons en microscopie électronique. Elle confère les caractères d'immunogénicité ainsi que d'attachement du parasite à la cellule-hôte. Les préparations pour l'étude microscopique des oocystes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

2- 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 ;

3- 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 ;

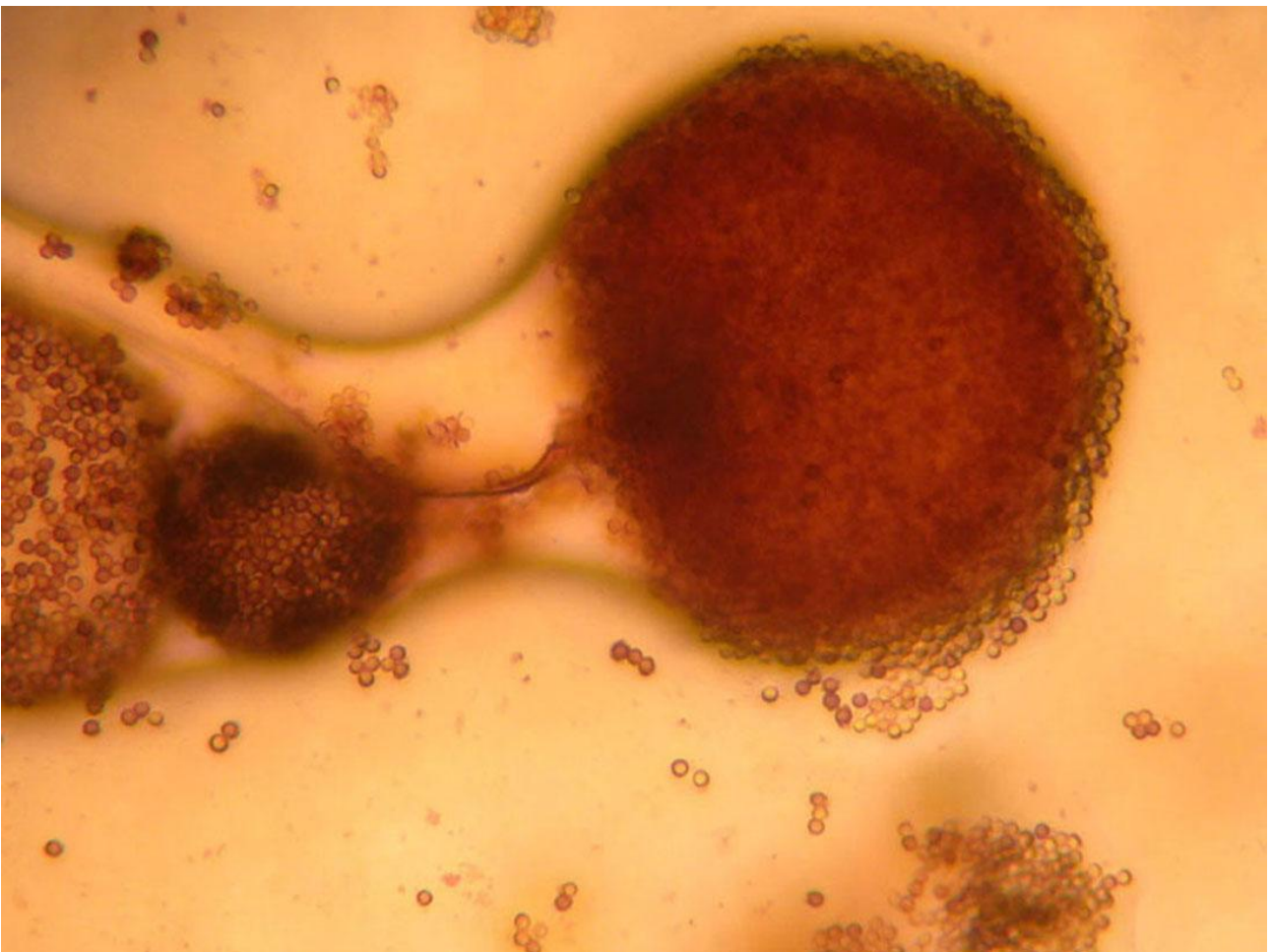
4- La couche interne est composée d'hydrates de carbone et de polysaccharides de structure (JENKINS *et al.* 2010).

**Figure 6 :** Modèle de la structure en 4 couches de la paroi d'un oocyste de *C. parvum* (Source : JENKINS *et al.* 2010).



CHAPITRE 2

**Epidémiologie**



## **2.1. Sources de parasites**

La source de parasite la plus importante est constituée par les chevreaux déjà malades. Ils sont capables d'excréter de l'ordre du milliard d'ookystes pendant la période patente. Ceci a été démontré chez l'agneau (PARAUD et CHARTIER, 2012).

Fayer et Xiao estiment que les veaux peuvent excréter jusqu'à 1010 ookystes lors d'une primo-infection (Fayer R. et Xiao L).

Le pic d'excrétion est maximum aux environs de 5-6 jours de vie.

Une autre source est représentée par les adultes excréteurs non symptomatiques. Deux études ont montré que la brebis excréta des ookystes pendant la période péripartum (DE GRAAF et al, 1999(a)).

Une étude par Castro-Hermida et al. (Castro-Hermida J.A., Delafosse A., Pors I.) sur 10 élevages de chèvres a montré qu'il existait une excrétion d'ookystes chez la chèvre dans les semaines qui précèdent ou qui suivent la mise-bas. Le taux d'excrétion varie entre 50 et 1000 opg, ce qui permet d'estimer une quantité de  $1,6 \times 10^5$  ookystes émis par jour au pic d'excrétion. Cependant le rôle véritable de cette excrétion dans la contamination des nouveau-nés doit être pris avec précaution car elle est également présente dans des élevages n'ayant pas de problèmes de cryptosporidiose.

Une excrétion résiduelle, faible et en décroissance, a été détectée chez les chèvres de moins de 12 mois (Noordeen F., Faizal A.C., Rajapakse R.P.)

D'autres animaux pourraient également être des sources d'ookystes. Les rongeurs, ou bien les animaux domestiques ont souvent été incriminés. Mais aucune étude, à notre connaissance, n'a réussi à mettre en évidence de lien épidémiologique direct entre ces animaux et les épizooties de cryptosporidiose chez les chèvres.

## **2.3. Résistance des oocystes**

### **2.3.1. Mesure de la viabilité et de l'infectiosité des oocystes**

La mesure de la viabilité et de l'infectiosité des oocystes est une étape primordiale visant à évaluer la résistance des oocystes en conditions naturelles ou expérimentales et ainsi valider ou non des études sur la désinfection.

#### **2.3.1.1. Viabilité des oocystes**

La viabilité des oocystes est la capacité d'un oocyste à libérer les 4 sporozoïtes qu'il contient. Elle peut être évaluée par la mise en évidence du dékystement des oocystes *in vitro* ou par différentes colorations vitales.



L'estimation de la viabilité du parasite peut également être obtenue par l'utilisation de colorants vitaux : le 4,6, diamidino-2'-phenylindole (DAPI) qui traverse les membranes et l'iodure de propidium (PI) qui a pour particularité de ne pas pénétrer les oocystes viables (Rapport AFSSA, 2002).

### **2.3.1.2. Infectiosité des oocystes**

L'infectiosité est la capacité des sporozoïtes libérés à pénétrer les cellules intestinales de l'hôte.

Elle peut être déterminée grâce au modèle souriceau BALB/c-NMRI nouveau-né. Il permet de suivre l'excrétion des oocystes chez l'animal : après inoculation par voie orale, les souris sont sacrifiées au bout de quelques jours et des analyses histologiques sont réalisées pour mettre en évidence des oocystes dans le tube digestif. L'infectiosité des oocystes est exprimée en pourcentage d'animaux trouvés infectés : il s'agit du nombre d'animaux infectés, divisé par le nombre d'animaux inoculés, multiplié par 100.

Des cultures cellulaires peuvent également être utilisées. Moins coûteuses et facilement reproductibles, elles permettent de simplifier les tests de nouveaux produits (NAJDROWSKI et al. 2007 ; SHAHIDUZZAMAN et al., 2010). Les cellules convenant le mieux à cette technique sont les cellules Caco-2 (cellules de carcinome de côlon humain), HT29 (cellules d'adénocarcinome colique humain) et HCT8 (cellules d'adénocarcinome iléo-caecal humain) (Rapport AFSSA, 2002).

L'infection et la croissance du parasite sont quantifiables grâce à l'immunofluorescence, l'hybridation in situ, la PCR (Polymerase Chain Reaction) ou la RT-PCR (Reverse-Transcription PCR) (Rapport AFSSA, 2002).

## **2.3.2. 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.

### **2.3.2.1. Résistance dans l'eau**

Les oocystes peuvent rester viables 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 (Rapport AFSSA, 2002). 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 (FAYER, 2004).

- À 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.

- 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.

D'autres paramètres peuvent également avoir une influence sur la résistance des oocystes de *Cryptosporidium parvum* dans l'eau. La quantité de bactéries hétérotrophes. La présence de la bactérie *Serratia marcescens* à activité chitino lytique 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 (FAYER, 2004).

### **2.3.2.2. 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.

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 »

(FAYER, 2004 ; KING et MONIS, 2006).

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 (SOARES, 2003 ; JENKINS *et al*, 2010).

Les différences observées entre ces trois types de sols s'expliqueraient par leurs pH spécifiques. 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 (FAYER, 2004 ; KING et MONIS, 2006).

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 (KING et MONIS, 2006).

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

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

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

3- La concentration en ammoniacque : des concentrations élevées peuvent entraîner une inactivation des oocystes (Rapport AFSSA, 2002).

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.

### ***2.3.3. Résistance aux procédés de désinfection***

Les oocystes de *C.parvum* sont remarquablement résistants aux désinfectants utilisés couramment (composés alcalins ou contenant des aldéhydes, ammoniacs, du chlore ou de l'alcool) (O'DONOGHUE, 1995).

L'utilisation du chlore à des concentrations usuelles pour le traitement des équipements d'eau et des piscines n'a que peu d'impact sur la viabilité des oocystes (FAYER, 2004 ; JENKINS et al., 2010).

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 (FAYER, 2004).

## ***2.4. Critères de sensibilité de l'hôte***

### ***2.4.1. L'espèce***

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

Parmi les Ruminants domestiques, qui présentent un intérêt en raison des pertes économiques générées par la maladie, les caprins sont les plus sensibles, suivis des bovins et des ovins (CHARTIER et PARAUD, 2010).

### ***2.4.2. La race***

En ce qui concerne les Ruminants, les différences de prévalence de la maladie entre les races allaitantes et les races laitières seraient dues à des différences dans le mode d'élevage de celles-ci, les races allaitantes étant élevées sur un mode extensif seraient ainsi moins sensibles au parasite (CHARTIER et PARAUD, 2010).

### ***2.4.3. L'âge***

De la même manière, chez les petits ruminants la prévalence de la cryptosporidiose varie selon l'âge des animaux, elle est plus élevée chez les jeunes que chez les adultes (PARAUD et CHARTIER, 2012).

### ***2.4.4. Le statut immunitaire***

Chez les jeunes ruminants, la prise du colostrum dans les premières heures de vie permet un transfert d'immunoglobulines de la mère vers le nouveau-né, le protégeant alors d'un certain nombre d'infections. Ainsi, un défaut au niveau du colostrum, en quantité et/ou en qualité, est souvent associé à des épidémies de cryptosporidiose en élevage (ANDERSON, 1998).

## ***2.5. Facteurs de risque***

### ***2.5.1. La saison***

L'effet saison observé pourrait être dû 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 (PAOLETI, 2002).

Une étude réalisée en 2004 (Prev Vet Med, 2006) sur 879 chevreaux a mis en évidence un facteur de risque lié au pic de mise-bas. Si la saison de chevrotage se déroule en hiver, il existe une différence entre les animaux nés avant février et ceux nés après, qui sont alors davantage infectés. Cet aspect est mis sur le compte de l'accumulation d'ookystes dans le milieu au fur et à mesure de l'avancement de la saison de mise-bas.

Il peut également être la cause d'une plus faible vigilance de l'éleveur quant aux soins apportés aux chevreaux après le pic des naissances : fatigue, lassitude ou quota de chevrettes de renouvellement atteint.

De la même façon et avec les mêmes conclusions, les agneaux nés pendant la 2ème période de la saison de mise-bas ont un risque accru de s'infecter (Vet Parasitol, 2002).

### ***2.5.2. La densité animale***

Une forte densité animale facilite les contacts entre les individus et ainsi la transmission du parasite. Cette situation peut se retrouver dans des élevages avec une mauvaise conception des 41 bâtiments, qui, associée à une hygiène défaillante des locaux et à un renouvellement de l'air insuffisant, facilite la contamination des animaux (PAOLETI, 2002).

L'éleveur doit constituer des loges de chevreaux homogènes en âge et poids. Des lots de 10 à 20 chevreaux sont ainsi envisageables. Ces lots permettent de diminuer la concurrence entre animaux à l'auge et d'adapter la ration en fonction des objectifs de croissance précédemment cités.

L'éleveur doit avoir à sa disposition un local ou une case séparée, où il peut placer les animaux malades, dès l'apparition des premiers signes cliniques

### ***2.5.3. La conduite d'élevage***

Une étude québécoise a estimé la prévalence de la cryptosporidiose à 40 à 50 % dans les élevages de chevreaux. Chez l'espèce caprine, la prévalence peut atteindre 100 % à la fin de la période de mise-bas.

Dans l'élevage ovin, la prévalence de la cryptosporidiose est plus élevée chez les sujets âgés de moins de trois semaines

L'ensemble des élevages génère une grande quantité de chevreaux et un brassage important de ceux-ci au sein des élevages mais aussi lors de leur collecte entre élevages.

L'apparition d'épizooties, telles que la cryptosporidiose, dans ces populations a alors de lourdes répercussions, tant le nombre d'animaux est élevé dans les nurseries au pic des mise-bas.

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 dû au fait que de telles prophylaxies sont souvent mises en place dans des élevages présentant une forte incidence de diarrhées chez les ovins, cependant ces mesures prophylactiques s'avèrent inefficaces contre les cas de cryptosporidiose (TROTZ-WILLIAMS *et al.*, 2008).

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 (TROTZ-WILLIAMS *et al.*, 2008).

En contradiction avec certains auteurs, l'étude de TROTZ-WILLIAMS *et al.* (2008) 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 effectif.

#### ***2.5.4. 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 qui peuvent persister pendant de longues périodes aussi bien sur les végétaux que dans les couches supérieures du sol.

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.

Les différentes méthodes de conservation de l'ensilage (aucun traitement, inoculation de *Lactobacillus plantarum* ou ajout d'acide formique) ne permettent pas une destruction totale du parasite. Ainsi pour un ensilage de ray-grass contaminé initialement par  $5,9 \times 10^4$  oocystes de *Cryptosporidium parvum*, le nombre d'oocystes passe à environ 104 après 3 mois. Quel que soit le mode de conservation de l'ensilage, le taux de viabilité des oocystes à la fin de l'étude oscille autour de 30% : le pouvoir infectieux de l'ensilage n'est donc pas négligeable (MERRY *et al.*, 1997).

L'épandage du fumier entraînerait également la contamination des cours d'eau situés à proximité des exploitations agricoles, en raison des phénomènes de ruissellement (PAOLETI, 2002).

## 2.6. Relation hôte-parasite

### 2.6.1. Pathogénie

Chez les Ruminants, *Cryptosporidium parvum* affecte principalement la partie distale du jéjunum et l'iléon, cependant des lésions ont été retrouvées dans le cæcum, le côlon et, plus rarement le duodénum (DE GRAAF *et al.*, 1999(a) ; PARAUD et CHARTIER, 2012).

L'invasion de la muqueuse entraîne une atrophie modérée à sévère des villosités associée à une réduction de la surface totale de la muqueuse intestinale. Celle-ci est due à une destruction d'entérocytes matures, à l'atrophie des microvillosités et à une augmentation de la perméabilité intestinale (WYATT *et al.* 2010).

L'augmentation de la perméabilité intestinale (suite à l'augmentation des taux d'interféron gamma), la perturbation du transport des nutriments (suite à la détérioration des villosités) et la baisse des activités enzymatiques (inhibition de l'absorption du sodium, augmentation des sécrétions de Cl<sup>-</sup> et HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> sous l'action de prostaglandines locales) sont responsables de la diarrhée et des pertes hydriques (WYATT *et al.*, 2010 ; PARAUD et CHARTIER, 2012).

La cytotoxicité directe du parasite intervient peu dans son pouvoir pathogène ; 15 à 20% seulement des cellules infectées rentrent en apoptose. Des études ont montré que dans les stades précoces de l'infection le parasite rend les cellules-hôtes réfractaires à l'apoptose lui permettant ainsi de réaliser son cycle et de se propager. Pendant les stades plus tardifs, la tendance s'inverse, les gènes antiapoptotiques sont sous-exprimés tandis que les proapoptotiques sont surexprimés (WYATT *et al.*, 2010).

Une entérotoxine de type « choléra-like » est suspectée d'être impliquée dans le développement de la diarrhée sécrétoire mais son existence n'a pas été démontrée à ce jour (THOMPSON *et al.* 2008).

Chez l'animal atteint que l'on continue à nourrir normalement, les nutriments vont persister dans l'intestin en quantité plus importante que ce que les villosités endommagées peuvent absorber. De plus, la fermentation des nutriments en excès dans le côlon va permettre la croissance exacerbée de bactéries et la production de composés délétères. Ceci est à l'origine d'un effet osmotique qui provoque un appel d'eau vers l'intestin donc de la diarrhée (SMITH, 2008).

La présence d'autres agents pathogènes agissant en synergie avec *Cryptosporidium parvum* peut amplifier ou prolonger l'infection (O'DONOGHUE, 1995).

Les effets de la diarrhée sont principalement dus aux pertes de fluides et d'électrolytes par l'animal. Dès lors que celui-ci ne parvient plus à compenser les pertes, les effets systémiques de la déshydratation et de l'acidose vont être visibles.

La perte de fluides, qui s'effectue essentiellement dans le compartiment vasculaire, peut conduire à un effondrement de la fonction cardiovasculaire.

L'animal malade présente ainsi de la dépression, une perte du réflexe de succion, une faiblesse si l'infection progresse un décubitus prolongé et un coma peuvent survenir.

Les pertes de potassium liées à la diarrhée et la redistribution de celui-ci du compartiment cellulaire vers le compartiment extracellulaire (suite à l'acidose), associées ou non à une hypothermie, peuvent être à l'origine d'un arrêt cardiaque et donc de la mort de l'animal (SMITH, 2008).

### 2.6.2. Réponse immunitaire à l'infection à *Cryptosporidium*

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.

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 (O'DONOGHUE, 1995).

Chez l'ovine, la flore intestinale présente après la naissance entre en compétition avec les sporozoïtes dans l'attachement aux cellules épithéliales intestinales. De plus, chez les bovins infectés par *Cryptosporidium parvum*, des quantités importantes de défensine  $\beta$  entérique, un peptide antimicrobien, ont été mises en évidence. Cependant ces mécanismes s'avèrent insuffisants pour neutraliser l'infection (WYATT *et al.*, 2010).

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 (O'DONOGHUE, 1995).

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 sporozoïtes, 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 (WYATT *et al.*, 2010).

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 du 5ème jour après l'infection tandis qu'il faut attendre le 7ème jour pour voir apparaître les IgG2 (WYATT *et al.*, 2010). 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 capables de neutraliser les formes libres du parasite cependant ils seraient inefficaces sur les stades intracellulaires et leur courte durée de vie limiterait leur efficacité (O'DONOGHUE, 1995).

**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 (WYATT et al., 2010).

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 (WYATT et al., 2010). 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 (O'DONOGHUE, 1995).

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 (WYATT et al. 2010).

### ***2.6.3. Signes cliniques***

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

Chez les petits ruminants, l'infection s'installe chez les animaux âgés de 5 à 20 jours (PARAUD et CHARTIER, 2012).

Les animaux atteints présentent de la diarrhée (de consistance molle à liquide, jaunâtre, visible sur la Figure 7) 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 (DE GRAAF et al, 1999(a)).

L'excrétion d'oocystes atteint son maximum 5 à 6 jours post-inoculation puis diminue rapidement entre 10 et 15 jours (DE GRAAF et al., 1999(a)). 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 excréteurs que chez ceux qui n'en excrétaient pas (PARAUD et CHARTIER, 2012). Chez le chevreau, la morbidité peut atteindre 80 à 100% et la mortalité peut dépasser 50% (PARAUD et CHARTIER, 2012).

Il n'y a pas de passage à la chronicité : les chevreaux malades guérissent spontanément ou bien succombent.



**Figure 7 :** Arrière-train souillé d'un chevreau atteint de cryptosporidiose (Source : GHECHAM sur le site internet VETOFOCUS).



#### **2.6.4. 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 (O'DONOGHUE, 1995).

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 (O'DONOGHUE, 1995). La lamina propria est infiltrée par des cellules mononucléaires et des granulocytes neutrophiles (DE GRAAF et al., 1999(a)).

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 coeur ou les conjonctives (O'DONOGHUE, 1995).

Chez les petits ruminants, le contenu de l'intestin apparaît plus ou moins liquide et une distension du cæcum et du côlon peut être observée.

Le tiers distal de l'iléon est congestionné et hémorragique, les noeuds lymphatiques mésentériques sont hypertrophiés (PARAUD et CHARTIER, 2012).

## CHAPITRE 3

### Diagnostic ET Lutte



## 3.1. Diagnostic

Lors de suspicion de cryptosporidiose, le diagnostic définitif ne peut être apporté que par un laboratoire. Cependant le praticien doit être à même de détecter les signes d'appel de l'infection. Etant donné les coûts engendrés par une lutte efficace contre le parasite, le diagnostic complet doit être sans faille.

Les techniques de diagnostic direct utilisées en laboratoire ont des seuils de détection différents. La spécificité est généralement bonne mais la sensibilité est plus variable.

Quoi qu'il en soit, un diagnostic positif doit être confronté à la clinique et n'exclut pas la mise en cause d'autres agents pathogènes.

### 3.1.1. Diagnostic épidémiologique et clinique

Les données épidémiologiques et l'expression clinique de la maladie permettent souvent d'aboutir à une suspicion de la maladie.

Le praticien doit ainsi songer à la cryptosporidiose lors d'apparition de cas de diarrhées sur des chevreaux âgés de 5 à 15 jours, avec une tendance à l'exacerbation des signes cliniques en fin de saison de mise-bas.

Si aucune réponse n'est visible suite à un traitement de première intention à base d'anti infectieux, la suspicion de cryptosporidiose est alors renforcée.

### 3.1.2. Diagnostic différentiel

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

Chez le chevreau, aucun agent pathogène n'est retrouvé dans 20 % des diarrhées épizootiques et la conduite alimentaire semble jouer un rôle important. (MILLEMANN et al. 2003)

Les agents infectieux sont nombreux également, il s'agit :

#### □ des colibacilles :

La colibacillose proprement dite provoque une diarrhée liquide, jaunâtre et de l'hyperthermie au cours des 5 premiers jours de vie. Les chevreaux touchés sont nombreux et plutôt dans la seconde moitié des mises bas. (MILLEMANN et al. 2003)

Il est vrai que la cryptosporidiose touche souvent des animaux un peu plus âgés mais en fin d'épizootie les chevreaux sont malades de plus en plus tôt, dès le quatrième jour de vie. (LE GUILLOU 2002)

Le syndrome du chevreau mou, d'origine colibacillaire, se caractérise par une grande faiblesse chez des chevreaux de 8 à 10 jours, de la diarrhée peut éventuellement s'observer. (MILLEMANN et al. 2003)

#### □ **des virus (rotavirus, coronavirus, ...)**

Ils provoquent de la diarrhée liquide au cours de la première semaine de vie, les animaux guérissent spontanément en quelques jours, sauf en cas de surinfections. Il y a plusieurs malades et plutôt en deuxième partie des mises bas.

#### □ **Clostridium perfringens type B,**

Cette toxi-infection se caractérise par des symptômes d'entérite hémorragique aiguë avant l'âge de trois semaines. Elle touche souvent les plus beaux chevreaux du lot. L'évolution est toujours très rapide et conduit souvent à la mort. L'affection a souvent pour origine un défaut dans l'allaitement artificiel et concerne plusieurs animaux.

#### □ **Salmonella,**

Plusieurs caprins de tous les âges présentent de la diarrhée verdâtre ou hémorragique, ils sont très abattus, fiévreux. Des cas de morts subites peuvent survenir. La salmonellose apparaît préférentiellement en fin de période de mises bas. (MILLEMANN et al. 2003)

#### □ **Giardia duodenalis**

La giardiose se manifeste classiquement par une diarrhée pâteuse, un amaigrissement et de l'abattement chez des animaux âgés de 5 à 10 semaines. (CASTRO-HERMIDA et al. 2005)

Le diagnostic différentiel est donc visiblement complexe sachant qu'en plus les chevreaux peuvent être victimes d'infections mixtes.

La description des diarrhées figure à titre d'information, elle n'est pas une règle.

Le recours au laboratoire est indispensable. (CHARTIER 2002a, MILLEMANN et al. 2003, SMITH et SHERMAN 1994, RADOSTIS et al. 2000)

### ***3.1.3. 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.

#### ***3.1.3.1. Microscopie conventionnelle***

L'observation directe de l'échantillon au microscope est réalisable cependant les 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 (O'DONOGHUE, 1995).

### ***3.1.3.2. Méthodes de concentration***

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

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 le surnageant contenant les particules les plus petites et légères (WYATT et al., 2010).

Le culot contenant les oocystes de *Cryptosporidium* peut alors être soumis à différentes techniques : la centrifugation au gradient de Percoll®, la flottation au chlorure de sodium saturé, la flottation au sucrose, la flottation au sulfate de magnésium ou de zinc mais également des filtrations à travers du polypropylène tissé ou des filtres en polycarbonate dans le cas des échantillons d'eau (O'DONOGHUE, 1995 ; WYATT et al. 2010).

Dans le cas de fèces avec un taux élevé de lipides, il est recommandé d'effectuer des étapes supplémentaires utilisant du formol-éthyl acétate ou du diéthyl éther (WYATT et al, 2010).

Il semblerait que les méthodes les plus adaptées soient celles utilisant des solutions de densité élevée. Il est cependant recommandé d'examiner l'échantillon le plus rapidement possible après la préparation en raison des effets délétères de ces solutions sur les oocystes (O'DONOGHUE, 1995).

### ***3.1.3.3. Méthodes 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 Acetate – acetic acid – Formaldehyde) (O'DONOGHUE, 1995). De nombreuses techniques de coloration sont disponibles.

Les colorations au bleu de méthylène-safranine, Kinyoun, Ziehl-Neelsen et à l'acarbolfuchsine-DMSO (Figure 9) font apparaître les oocystes de *Cryptosporidium* en rouge tandis que le fond et les autres particules de l'échantillon ne sont pas colorés (FAYER et al, 2000).

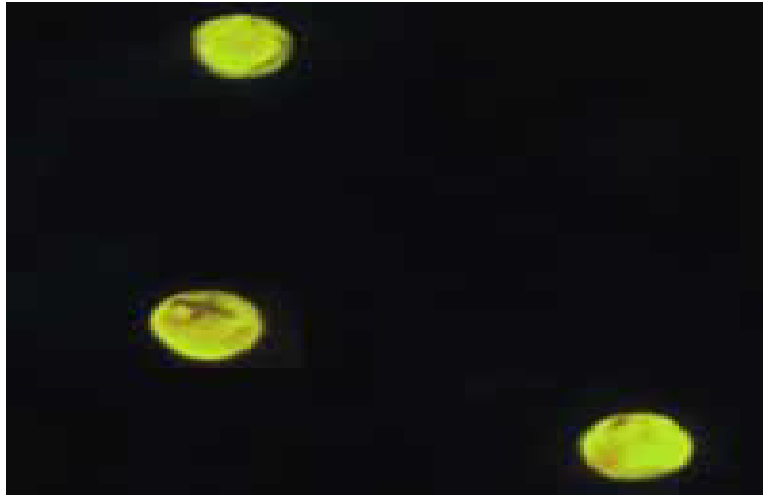
Des fluorochromes, tels que l'auramine-rhodamine (Figure 8) et l'auraminecarbolfuchsine, peuvent également être utilisés, ils sont très sensibles mais demeurent coûteux (FAYER et UNGAR, 1986 ; O'DONOGHUE, 1995).

Il existe également des colorations dites « négatives », comme le vert de malachite, la merbromine ou la nigrosine, qui colorent le fond, les bactéries et les levures mais pas les oocystes. Cependant ces techniques sont chronophages et nécessitent un manipulateur expérimenté (FAYER et al., 2000).

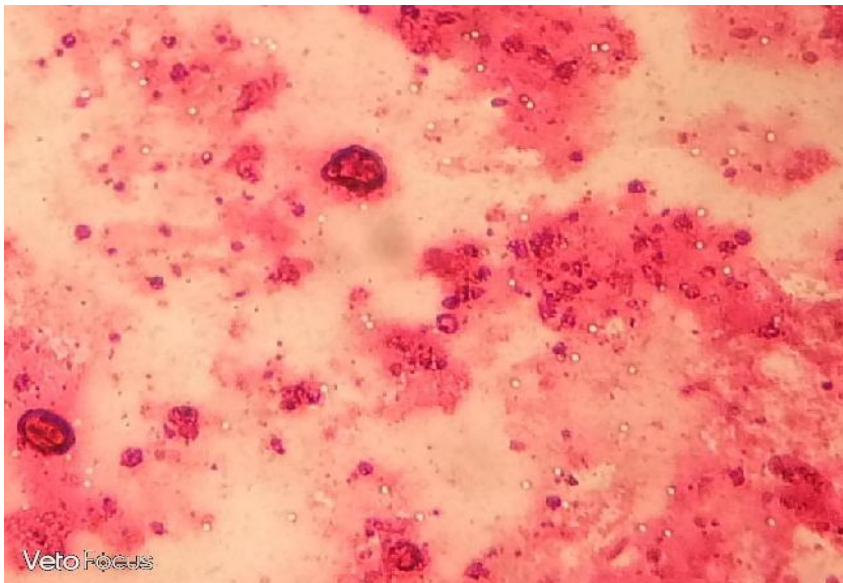
Dans de nombreux laboratoires, la technique de choix reste la coloration acidophile utilisant par exemple la fuchsine basique (O'DONOGHUE, 1995).

La sensibilité, la spécificité ainsi que les résultats fournis par les techniques de coloration varient de façon très importante selon les laboratoires. A ce jour, la coloration « négative » au vert de malachite est la technique ayant obtenu les meilleurs résultats (THOMPSON et al., 2008).

**Figure 8:** Coloration d’oocystes de *Cryptosporidium* à l’auramine-rhodamine (Source : CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC)).



**Figure 9:** Coloration d’oocystes de *Cryptosporidium* à la fuschine (Source : MEYUS sur le site internet VETOFOCUS).



### 3.1.3.4. 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.

Ces techniques incluent entre autres l'utilisation d'anticorps polyclonaux fluorescents, l'immunofluorescence basée sur des anticorps monoclonaux (Figure 10), les ELISAs (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assays), la RPH (Reverse Passive Haemagglutination), l'immunosérologie basée sur la détection par immunofluorescence ou ELISA, et l'immunochromatographie en phase solide (FAYER et al., 2000).

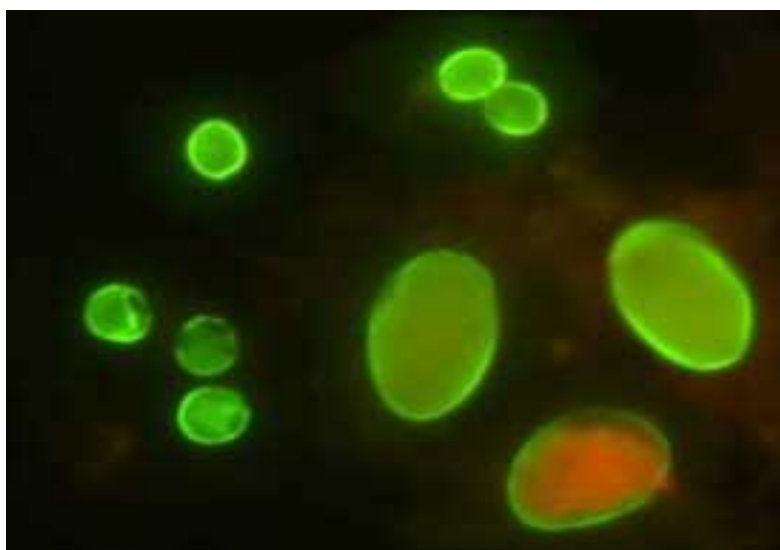
Le seuil de détection des oocystes par ELISA utilisant des anticorps monoclonaux est de  $3 \times 10^5$  opg contre  $1 \times 10^6$  lors de l'utilisation d'une coloration acidophile. Ce seuil passe à  $1 \times 10^3$  opg dans le cas de l'immunofluorescence indirecte (SMITH, 2008).

Ainsi ces tests sont intéressants pour mettre en évidence des oocystes de *Cryptosporidium* présents en faible quantité parmi un nombre important de débris (O'DONOGHUE, 1995).

Cependant, des réactions croisées sont possibles entre les anticorps et d'autres microorganismes révélant un manque de spécificité de ces méthodes (FAYER et al, 2000).

Des kits de diagnostic utilisant ces techniques sont aujourd'hui commercialisés dans de nombreux pays. Ils permettent une détection rapide et peu onéreuse des cryptosporidies à un seuil de  $1 \times 10^3$  opg (O'DONOGHUE, 1995 ; SMITH, 2008). Par exemple, SPEED V-DIAR® des laboratoires BVT utilise le principe d'immunochromatographie sur bandelette, ce test est réalisable au chevet du malade et délivre un diagnostic dans les 15 minutes

**Figure 10:** Image d'oocystes de *Cryptosporidium* (en haut à gauche) révélés par des anticorps immunofluorescents (Source : CDC).



### **3.1.3.5. Cytométrie de flux**

La cytométrie de flux se définit comme l'étude précise de cellules isolées entraînées 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 et quantitative 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 (JEX et al., 2008 ; LECONTE, 2013).

Les techniques de cytométrie de flux et de tri cellulaire auraient une meilleure sensibilité que les techniques de microscopie conventionnelle (O'DONOGHUE, 1995).

### **3.1.4. Diagnostic de biologie moléculaire**

Comme le rappelle DE WAELE et al. (2010), les examens microscopiques souffrent très souvent d'un manque de sensibilité et ne permettent la mise en évidence que d'animaux cliniquement atteints et excréant de grandes quantités d'oocystes.

Les méthodes moléculaires, comme la PCR quantitative ou la COWP-PCR (*Cryptosporidium* oocystwallprotein PCR), présentent une alternative à la détection du parasite. Selon une étude de DE WAELE et al. (2010), la PCR quantitative serait la méthode la plus sensible et permettrait d'identifier les animaux dans les stades les plus précoces de la maladie.

La quantité de faux positifs n'est cependant pas négligeable, elle résulte de la détection d'acides nucléiques nus, de micro-organismes non viables et d'une contamination de l'échantillon en laboratoire (FAYER et al., 2000).

D'un point de vue épidémiologique, l'utilisation de telles techniques permet de déterminer le génotype mais aussi le sous-type de *Cryptosporidium*. La principale limite réside dans le fait que seul le génotype dominant est détecté dans l'échantillon (XIAO, 2010).

L'utilisation de ces méthodes trouve ainsi un intérêt en santé publique puisqu'elles permettent d'identifier les différentes espèces et génotypes de *Cryptosporidium* présents tant chez les animaux que dans les autres sources de parasites à l'origine d'une contamination humaine (XIAO, 2010).

### **3.1.5. Diagnostic histologique**

Comme vu précédemment, l'infection à *Cryptosporidium parvum* est à l'origine d'une atrophie modérée à sévère des villosités intestinales accompagnée d'une fusion de celles-ci et d'une infiltration de la lamina propria par des cellules mononucléaires et des granulocytes neutrophiles (DE GRAAF et al., 1999(a) ; SMITH, 2008). Cependant ces lésions, non pathognomiques, ne permettent pas de confirmer le diagnostic de cryptosporidiose.

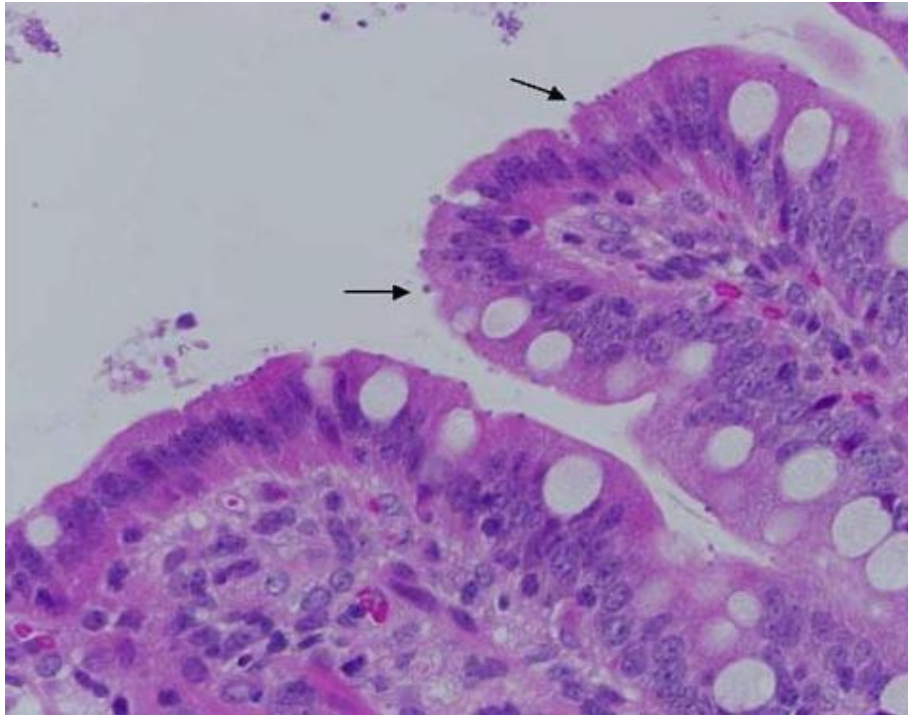
L'examen histologique peut en revanche mettre en évidence la présence de différents stades du parasite dans les échantillons observés, ceci est illustré par la (Figure 11). Dans un premier temps, les tissus sont fixés pour éviter l'autolyse. Les échantillons sont ensuite colorés à l'aide



d'hématoxyline et d'éosine ou par la coloration de Giemsa. Néanmoins, l'utilisation d'un microscope électronique est souvent nécessaire pour confirmer l'identité des micro-organismes présents (O'DONOGHUE, 1995).

Ces techniques s'avèrent peu sensibles en raison de la taille des échantillons et de la distribution irrégulière du parasite dans les tissus prélevés. Etant également coûteuses et chronophages, elles ne sont pas recommandées pour un diagnostic de routine (O'DONOGHUE, 1995).

**Figure 11:** Coupe histologique colorée à l'Hémalin-Eosine-Safran d'un intestin parasité par *Cryptosporidium parvum* (Source : NARO).



**Tableau 2:** Distribution de *C. parvum* dans le tractus intestinal des jeunes agneaux expérimentalement infestés, observée à partir des examens de raclages de muqueuses et ceux des sections histologiques (Adapté de O'DONOGHUE, 1995 et LECONTE, 2013)

Examens des différents organes	Examens					
	Raclage de muqueuses			Histologiques		
	A4	A9	A2	A4	A9	A2
<b>Caillette</b>	-	-	-	-	-	-
<b>Duodénum</b>	-	-	-	-	-	-
<b>Jejunum</b>	++	+	-	++	-	-
<b>Iléon</b>	+++	+	+	++++	++	-
<b>Jonction Iléon-colique</b>	-	-	-	+	-	-
<b>Caecum</b>	-	-	-	+	-	-
<b>Colon</b>	-	-	-	-	-	-
<b>Rectum</b>	-	-	-	-	-	-

A4: Agneau 4, Mort lourdement infesté (+3: nbre d'oocyste > 25/ champ, observé à Gx40); A9: Agneau 9, Mort moyennement infesté (+2: nombre d'oocyste > 5/ champ, observé à Gx40); A2: Agneau 2, Mort faiblement infesté

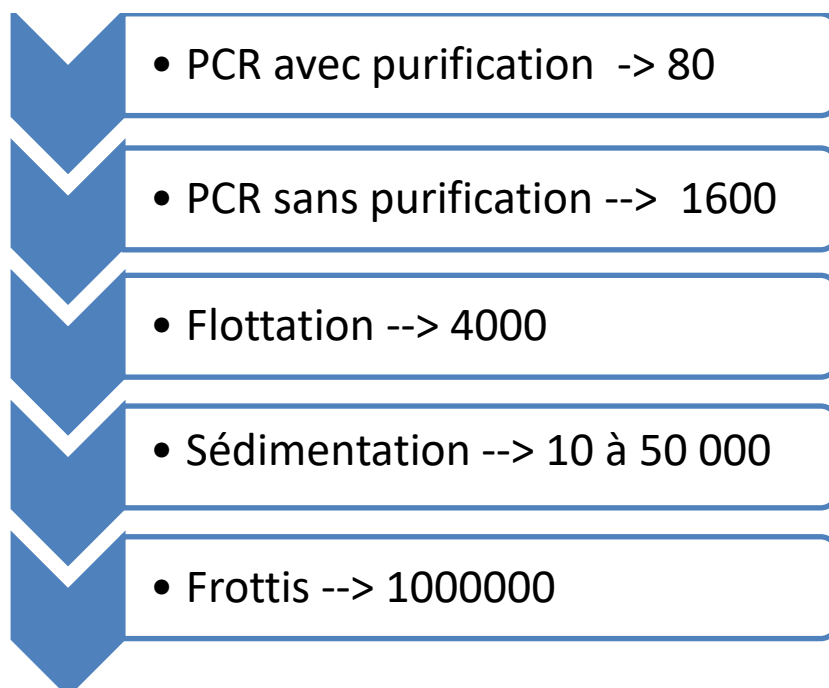
(+1: nombre oocyste < 5/ champ, observé à Gx40). +: Présence de parasite; -: Absence de parasite.

### 3.1.6. Critères de choix d'une méthode diagnostique

Toutes ces techniques sont conditionnées par la fiabilité du prélèvement et de sa préparation.

Il existe ainsi de nombreuses méthodes de purification, concentration, centrifugation permettant d'améliorer là encore la sensibilité et les seuils de détection des différentes techniques (Figure 12).

**Figure12:** Seuils de détection des différentes techniques de laboratoire (Chartier C., *Contrôle de la cryptosporidiose des ruminants*. Le Point Vétérinaire, 2000.)



Malgré les différences de sensibilité des techniques employées (Figure 12), le choix d'une technique pour un simple diagnostic ne doit pas être fait sur ce critère car les taux d'excrétion sont tellement importants qu'ils dépassent largement les seuils les plus élevés.

### ***3.1.7. Détection de cryptosporidies dans l'eau et les aliments***

#### ***3.1.7.1. Détection dans l'eau***

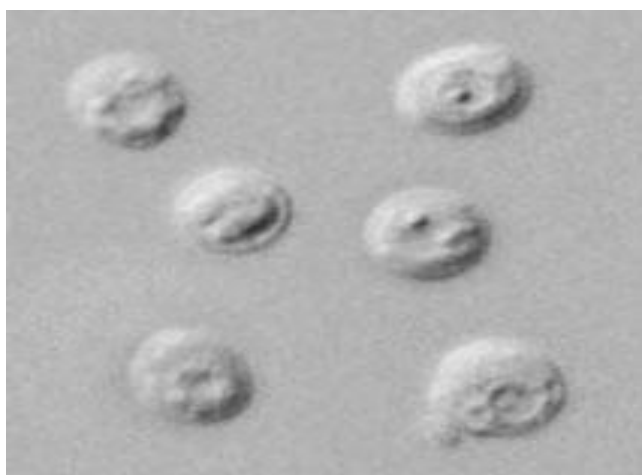
Le challenge du contrôle des eaux réside dans la détection d'un faible nombre d'oocystes dans un volume d'eau très important. Pour pallier ce problème il est donc nécessaire de concentrer les oocystes.

Il existe une technique normalisée par l'AFNOR (norme NF T 90-455 de juillet 2001) pour la recherche de *Cryptosporidium* spp. Dans l'eau. On commence par concentrer les oocystes à l'aide d'une cartouche filtrante puis on centrifuge les produits filtrés. On pratique ensuite une immunocapture des oocystes sur des billes magnétiques recouvertes d'un anticorps monoclonal anti-*Cryptosporidium* et enfin on révèle par immunofluorescence directe (utilisant un anticorps monoclonal anti-*Cryptosporidium* marqué à la fluorescéine) sous un microscope à fluorescence (Rapport AFSSA, 2002).

De très nombreuses techniques sont disponibles pour la détection des oocystes dans l'eau telle que les méthodes de microscopie conventionnelle, la cytométrie de flux, la PCR, la RFLP-PCR (Restriction Fragment Length Polymorphism-PCR) et les techniques de FISH (Fluorescent In Situ Hybridization) entre autres. Une image en microscopie à contraste interférentiel des oocystes est visible sur la Figure 13.

Dans le cas de la détection des oocystes de *Cryptosporidium*, un anticorps sert de récepteur tandis que le signal mesuré correspond à la quantité d'oocystes présents. Selon l'étude de GAVRIILIDOU et BRIDLE (2012), les bio senseurs utilisant les IgG comme récepteurs (après immobilisation sur un support de protéine G) ont montré les meilleurs résultats d'immunocapture par liaison aux oocystes. La validation et l'approbation de cette technique sont néanmoins nécessaires avant une possible utilisation dans l'industrie de l'eau.

**Figure 13:** Image obtenue par la technique de microscopie à contraste interférentiel (Source : CDC).



### 3.1.7.2. Détection dans les aliments

Les techniques de détection des oocystes sont difficiles à mettre en place pour les aliments.

L'immunocapture présente une efficacité bien moindre sur les aliments que dans l'eau (Rapport AFSSA, 2002).

L'utilisation de la PCR est problématique en raison de la variété des aliments à analyser et de l'incapacité à aller au bout de la technique, qui requiert une culture du parasite issu des aliments suivie d'une extraction d'ADN et d'une PCR. De plus, la présence d'inhibiteurs de la PCR dans les aliments est à l'origine de faux négatifs (MILLAR et al, 2002).

## 3.2. Traitements

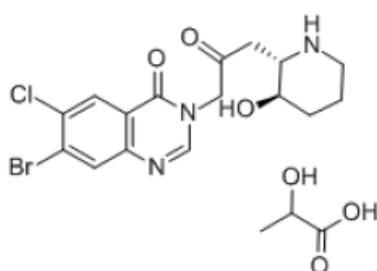
Lorsque la maladie s'est déclarée au sein de l'élevage, l'emploi de traitements médicaux spécifiques ou symptomatiques permet de diminuer la mortalité et la morbidité ainsi que de réduire l'excrétion des ookystes.

### 3.2.1 Mesures de lutte spécifiques

Plus de 140 molécules ont déjà été testées dans la lutte contre la cryptosporidiose. Chez les ruminants, seules 4 molécules ont montré une efficacité réelle lors des tests cliniques.

#### 3.2.1.1. Lactate d'halofuginone

##### Structure chimique :



Le lactate d'halofuginone est commercialisé en France sous le nom déposé Halocur. Il possède une AMM avec indication dans les cas de cryptosporidiose chez le veau, que ce soit en prévention ou en traitement.

En prévention, le traitement doit être administré dans les 48 premières heures de vie. En traitement, le fabricant recommande un traitement dans les 24 premières heures d'apparition de la diarrhée.

Les recommandations du fabricant, corroborées par plusieurs essais cliniques, préconisent une administration du produit une fois par jour pendant 7 jours à la dose de 100g/kg. Cette administration doit être réalisée de façon individuelle après le repas lorsque la caillette est pleine.

Concernant les petits ruminants, plusieurs études ont été réalisées pour déterminer les seuils d'efficacité du produit.

Chez l'agneau des doses de 0,5 mg/kg à partir du 2ème jour de vie pendant 3 à 5 jours ont été préconisées (GIADINIS et al., 2008 ; SHAHIDUZZAMAN et DAUGSCHIES, 2012).

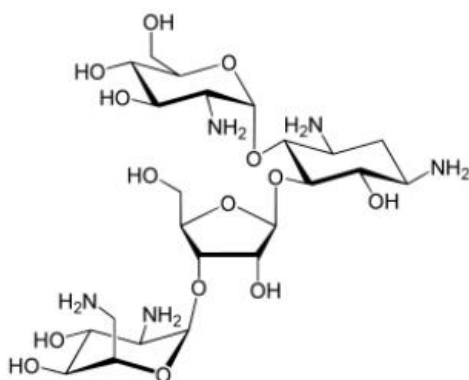
Cette molécule semble avoir un effet « cryptosporidiostatique » puisque l'excrétion reprend en fin de traitement. Cependant il apparaît que l'excrétion n'est jamais nulle pendant le traitement chez les petits ruminants (PEETERS et al., 1993).

La forme galénique est peu adaptée à une utilisation en troupeaux caprins laitiers. De plus le temps d'attente pour la viande et les abats est de 13 jours chez le veau et de 28 jours chez le chevreau par application de temps d'attente forfaitaires (PEETERS et al., 1993).

L'activité anticryptosporidienne et le bénéfice clinique lié à l'utilisation du lactate d'halofuginone sont limités en présence de coinfections puisqu'il entraîne seulement un allongement de la période prépatente (ALMAWLY et al., 2013).

### 3.2.1.2. paromomycine

#### Structure chimique :



Dans le tractus gastro-intestinal, elle est absorbée en petites quantités le long de la membrane apicale des entérocytes garantissant ainsi une efficacité sur les formes intracellulaires du parasite. En revanche, elle se montre sans effet sur les formes extracellulaires (GRIFFITHS, 1998 ; TZIPORI, 1998). Cette faible absorption assure une forte concentration de la molécule localement et entraîne une quasi absence d'effets indésirables associés à son utilisation ainsi qu'un taux très réduit de résidus dans les viandes, ce qui est intéressant dans les filières des agneaux à viande ou des chevreaux (CHARTIER et al., 1996 ; SHAHIDUZZAMAN et DAUGSCHIES, 2012).

Le mécanisme d'action reposerait sur l'inhibition de l'activité ribosomale comme c'est le cas avec d'autres antibiotiques de la famille des aminoglycosides. La paromomycine se fixerait au site A (Aminoacyl) du ribosome perturbant alors la synthèse protéique qui est très importante

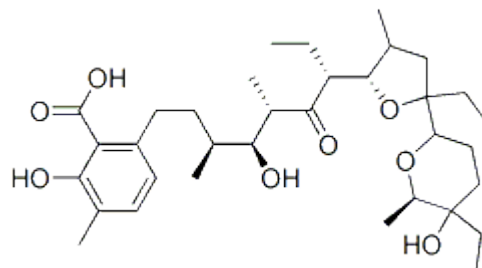
pendant le développement asexué du parasite (MARSHALL et FLANIGAN, 1992 ; SHAHIDUZZAMAN et DAUGSCHIES, 2012). Les essais thérapeutiques ont prouvé que

Chez et les chevreaux, l'administration orale de paromomycine à la dose de 100 mg/kg de poids vif en une ou deux prises quotidiennes pendant 11 jours consécutifs réduit l'excrétion des oocystes, les signes cliniques et la mortalité due une infection naturelle ou expérimentale (FAYER et ELLIS, 1993 ; MANCASSOLA et al., 1995 ; CHARTIER et al., 1996). Une étude de JOHNSON et al. (2000) sur des chevreaux rapporte des conclusions identiques lors de l'utilisation de la même posologie durant 21 jours consécutifs, et l'absence d'effets secondaires pendant et jusqu'à 3 mois après le traitement. En revanche, les résultats de GRINBERG et al. (2002)

Cependant, en inhibant le développement du parasite, la paromomycine inhibe également la mise en place d'une réponse immunitaire pendant la durée du traitement. Une légère augmentation du taux d'anticorps a été décrite à la fin du traitement supposant la présence d'une infection de faible intensité. Le développement du parasite à bas bruit permettait ensuite aux chevreaux d'acquérir une immunité partielle puisqu'ils sortaient indemnes (symptômes et excrétion d'oocystes absents) lors d'un challenge 11 jours après l'arrêt du traitement (MANCASSOLA et al., 1995 ; WYATT et al., 2010).

### 3.2.1.3. Lasalocide

#### Structure chimique :



Le lasalocide est un antibiotique ionophore coccidiostatique, utilisé chez les volailles comme additif anti-coccidien. (AVATEC ND)

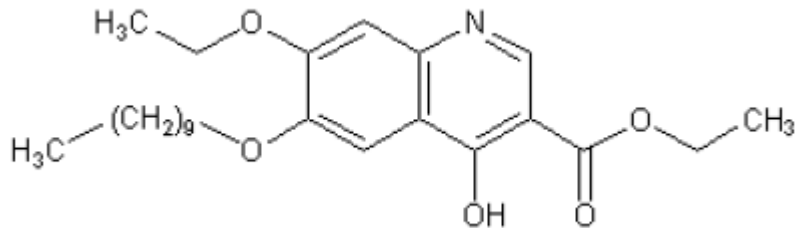
Il serait partiellement actif contre *C. parvum* (GOBEL 1987, PONGS 1989, CASTROHERMIDA et al. 2000b) mais est très mal toléré par les veaux, en particulier ceux âgés de moins de 7 jours. (BENSON et al. 1998)

C'est une molécule qui est tout de même utilisée par certains praticiens sur les agneaux et chevreaux. (PONCELET 2003) Cette pratique serait efficace mais n'a pas été validée par des essais scientifiques. Par ailleurs, le lasalocide n'a pas de LMR, il ne peut donc pas être prescrit ou légalement utilisé chez les ruminants. (PONCELET 2003)

En l'absence de recommandations clairement établies concernant les modalités d'emploi dulasalocide dans le traitement de la cryptosporidiose, c'est une molécule qui a été utilisée assez empiriquement sur le terrain. (BENSON et al. 1998) Cette pratique s'est soldée par denombreux accidents.

#### 3.2.1.4. Decoquinate

##### Structure chimique :



Le décoquinate est un anti-coccidien coccidiostatique utilisé à des fins préventives chez leveau et l'agneau sevrés. (DECCOX ND) (Dictionnaire des Médicaments Vétérinaires 2003)

Son efficacité dans la prévention de la cryptosporidiose est controversée.

Des essais sur chevreaux infectés expérimentalement ont montrés des résultatsassez encourageants, qui n'ont pas été confirmés par les essais suivants in vitro ou sursouris et veaux nouveau-nés. (REDMAN et FOX 1994, MANCASSOLA et al. 1997, LINDSAY et al. 2000, MOORE et al. 2003)

Des vétérinaires utilisent quand même le décoquinate pour prévenir la cryptosporidiosechez les jeunes ruminants. (MOORE et al. 2003, LINDSAY et al. 2000). Les dosesutilisées sont nettement supérieures à celles indiquées dans le traitement de la coccidiosemais ces traitements sont bien tolérés. Leur efficacité n'est pas prouvée.

Plus récemment, des vétérinaires ont eu l'idée d'administrer du décoquinate aux mèresavant et juste après la mise bas, de façon à réduire la contamination des nouveau-nés à leurcontact. (MUSNIER 2004)

Cette pratique ne fait pas l'unanimité et n'est pas encore validée par des essaisscientifiques. (CHARTIER 2001b)

Le décoquinate agit sur les premiers stades parasitaires dans le cadre des coccidioses maisson action exacte n'est pas décrite. L'activité de cette molécule sur les cryptosporidies n'estpas mieux connue. (ANONYME 2005c).

### **3.2.2. Mesures de lutte non spécifiques**

Il s'agit ici des traitements destinés à soutenir les fonctions vitales de l'animal malade qui peuvent être mis en place lors de diarrhée chez les ruminants (Morin 2002).

#### **3.2.2.1. Le régime alimentaire**

Lors de diarrhée, un arrêt de l'alimentation lactée peut être effectué pendant 24 heures, tout en prenant soin de conserver un état d'hydratation correct de l'animal.

De plus, l'apport de certains acides aminés (tels que l'arginine et la glutamine) a des effets bénéfiques sur l'état général des veaux malades.

De façon générale, il faut également apporter aux chevreaux toutes les vitamines (E,B,C...) qui ne seront plus produites par les micro-organismes de la flore endogène.

#### **3.2.2.2. La réhydratation**

Difficile à mettre en place en élevage caprin, il s'agit d'une pratique systématique dans les cas de diarrhée du veau. Des solutions électrolytiques sont disponibles et permettent la régulation des troubles ioniques qui apparaissent lors de diarrhées.

La réhydratation par perfusion est généralement trop coûteuse pour pouvoir être mise en place lorsqu'un lot complet de chevreaux est atteint.

#### **3.2.2.3. Les anti-inflammatoires**

L'implication des prostaglandines (cf paragraphe II.C.4) dans le processus inflammatoire permet de penser que les AIN (anti-inflammatoires non stéroïdiens) pourraient être bénéfiques dans les cas de diarrhées cryptosporidiennes.

Nous n'avons trouvé aucune donnée sur leur efficacité dans les élevages caprins.

#### **3.2.2.4. Les modificateurs digestifs**

Chez le chevreau, seuls les pansements intestinaux sont assez peu coûteux pour pouvoir être utilisés de façon régulière. Ils recouvrent et protègent la muqueuse intestinale, et auraient un léger effet direct sur les vésicules parasitophores [Morin 2002].

L'emploi de gastro-cinétiques, de spasmolytiques, d'anti-diarrhéiques ou de cholérétiques peut être envisagée sur des animaux de forte valeur, mais leurs utilisations doivent être raisonnées en fonction des nombreux effets secondaires qu'ils sont susceptibles d'induire.



### **3.2.2.5. Les antibiotiques**

Ils n'ont d'utilité que dans les cas où la diarrhée est d'origine bactérienne ou lors de surinfections bactériennes secondaires. Ils doivent être utilisés selon les bonnes pratiques de l'antibiothérapie et plutôt lorsqu'un antibiogramme a été réalisé.

## **3.3. Prophylaxie**

### ***3.3.1. Prophylaxie hygiénique***

#### **3.3.1.1. Mesures de désinfection**

Les ookystes de *Cryptosporidium* spp. Sont très résistants dans le milieu extérieur. Certaines pratiques ont montré leur efficacité pour détruire un maximum d'ookystes ou atténuer leur pouvoir pathogène.

Les recommandations habituellement faites aux éleveurs associent plusieurs étapes complémentaires. Elles doivent suivre un curage des litières aussi complet que possible.

L'utilisation de vapeur d'eau chaude sous pression à l'aide d'un nettoyeur haute pression (type Kärcher) permet de détruire et d'éliminer une grande partie des ookystes du milieu. Cette méthode est cependant subordonnée au type de sol du bâtiment : elle est adaptée au sol en béton mais impossible à appliquer sur des sols en terre battue.

Il s'agit de la méthode de choix pour le nettoyage des aires de mise-bas chez le veau, lorsque ces aires de mise-bas bétonnées existent.

Cette méthode permet également de nettoyer les outils quotidiennement utilisés par l'éleveur, les murs du bâtiment et les barrières utilisées pour la contention des animaux.

Un agent de désinfection chimique peut ensuite être utilisé [Morin , 2002]:

- L'ammoniaque gazeux (5 à 10%), que l'on retrouvait dans l'Oo-cide ND
- Le formol (10%)
- L'eau de javel concentrée (5,25%)
- Le dioxyde de chlore (0,4 ppm)

Ces molécules doivent être en contact avec les éléments à désinfecter pendant au moins 10 minutes. De plus leur utilisation nécessite des précautions particulières (port de masque à gaz, de combinaison de protection, etc.), ce qui limite leur emploi régulier en élevages.

Leur efficacité est également limitée par les procédures de nettoyage mises en oeuvre avant leur application, et donc limitée par la conception même des bâtiments.

Enfin, un vide sanitaire permet d'assécher le milieu et de diminuer la charge parasitaire résiduelle par dessiccation des ookystes.

### **3.3.1.2. Mesures de protection**

Les animaux les plus jeunes sont les plus sensibles vis-à-vis de l'infection par *Cryptosporidium* spp.

La mise en place de mesures permettant de retarder le contact entre les animaux les plus sensibles et le parasite permet de diminuer la gravité des signes cliniques de la maladie et de limiter le nombre d'ookystes excrétés.

Les chevreaux doivent ainsi être placés dans des locaux spécifiques, propres, secs et préalablement nettoyés.

Ces locaux doivent être maintenus dans un état hygiénique aussi propre que possible pendant toute la phase de réceptivité maximale des chevreaux (soit plus de 3 semaines d'âge).

Pour y parvenir, l'éleveur peut séparer ses chevreaux en classes d'âges homogènes en évitant les transferts d'animaux entre lots. Les séparations physiques entre lots doivent être efficaces : murs pleins, autre bâtiment... L'idéal étant que l'éleveur utilise un matériel différent pour chacun de ses lots.

En élevages bovins, les mise-bas ont également lieu, si possible, dans un endroit différent de celui de l'élevage du troupeau. Ces locaux sont nettoyés entre chaque naissance. L'utilisation de maternités est très difficile à mettre en place en élevages caprins, du fait du fort regroupement des mise-bas.

L'isolement des animaux malades dans un local séparé est préconisé lors d'épizooties de cryptosporidiose. Elle permet d'éviter le contact entre les animaux sensibles et les animaux fortement excréteurs. Cette infirmerie doit pouvoir être facilement nettoyée et désinfectée, et disposer de matériel utilisé uniquement dans ce local.

### **3.3.1.2. Gestion du troupeau**

Certains points sont habituellement cités dans la prévention de nombreuses maladies chez les animaux de production.

Les soins apportés aux mères en fin de gestation (aliments, vitamines, oligo-éléments) diminuent la réceptivité des femelles vis-à-vis de nombreux agents pathogènes. De plus l'incidence de ces agents pathogènes peut être réduite par la mise en place de vaccinations, notamment en ce qui concerne les agents habituels de diarrhées.

L'apport de colostrum doit également être fait selon les recommandations du paragraphe I.C pour limiter l'impact de la cryptosporidiose et limiter les infections concomitantes.

### ***3.3.1. Prophylaxie médicale***

La conception de vaccins destinés aux mères, et entraînant une protection de leurs petits, est encore à l'étude.

Les premiers tests réalisés sont peu concluants, notamment chez les petits ruminants.

#### **Vaccination des mères**

Chez les chèvres, l'immunisation par voie nasale des femelles gestantes avec un vaccin à ADN CP15 (plasmide recombinant codant la protéine de surface CP15 des sporozoïtes de *C. parvum*) conduisait à un transfert d'immunité au nouveau-né lui assurant une protection contre l'infection à *C. parvum*. La vaccination entraînait la production d'anticorps anti-CP15 dans le sérum et le colostrum des chèvres mais le mécanisme immunitaire précis en jeu demeure inconnu.

La quantité d'oocystes excrétés, la durée de l'excrétion ainsi que la sévérité et la durée de la diarrhée étaient diminuées chez les chevreaux nés de mères vaccinées. De plus, de meilleures performances de croissance étaient rapportées chez ces derniers. Ainsi, ce type de vaccin pourrait permettre de réduire les pertes économiques imputables à la cryptosporidiose chez les petits ruminants, en diminuant notamment la contamination de l'environnement (SAGODIRA et al, 1999).

#### **Vaccination des jeunes**

La vaccination des jeunes animaux, plus particulièrement dans le cas des Ruminants, pourrait permettre de diminuer les pertes économiques induites par la cryptosporidiose. La contamination de l'environnement pourrait également être contrôlée et avec elle les épidémies humaines liées à la consommation d'eau contaminée (HARP et GOFF, 1995 ; DE GRAAF et al., 1999(b)).

Chez les Ruminants, la placentation est de type syndesmochorial empêchant ainsi le passage transplacentaire des immunoglobulines pendant la gestation. A la naissance, les animaux sont dits agammaglobulinémiques et la prise colostrale s'avère alors nécessaire pour protéger les nouveau-nés d'une exposition aux pathogènes mais elle demeure inefficace contre l'infection par *C. parvum*.

La vaccination des jeunes ruminants est pourtant difficile à réaliser en raison de l'existence de la « période critique » : pendant celle-ci, les anticorps maternels colostraux peuvent interférer avec les antigènes du vaccin et empêcher la mise en place d'une immunité protectrice. Pour pallier à ce problème, plusieurs alternatives ont été proposées telles que l'utilisation d'antigènes non reconnus par les anticorps maternels, l'administration du vaccin par le biais des muqueuses ou l'utilisation de vaccins à ADN.

De plus, chez les nouveau-nés, la vaccination induirait une réponse immunitaire primaire avec une longue période de latence et une production d'anticorps en faible quantité posant ainsi la question de la protection induite par le vaccin sachant que les animaux sont susceptibles d'être infectés dès le jour de leur naissance (DE GRAAF et al, 1999(b)).

# CONCLUSION

---

La cryptosporidiose est une maladie due à un parasite protozoaire Apicomplexa capable d'infester un très grand nombre d'espèces. Sa répartition géographique est cosmopolite aussi bien chez les Mammifères que chez les Reptiles, les Oiseaux ou les Poissons.

Cryptosporidium est à l'origine d'un syndrome gastro entéritique et son importance est primordiale chez les nouveau-nés bien que toutes les classes d'âge puissent être infectées par le parasite. La sévérité de la maladie est fonction du statut immunitaire de l'individu.

Elle touche les chevreaux à la fin de la première semaine de vie et se traduit principalement par une diarrhée qui peut atteindre rapidement l'ensemble des jeunes. La mortalité associée peut devenir très importante dans certains élevages (> 80 %).

Ce parasite se multiplie dans l'intestin. Lors de diarrhées, un animal malade émet des œufs, appelés ookystes, qui sont très résistants dans le milieu extérieur. Les ookystes peuvent survivre plusieurs années dans la litière et sur le matériel.

Les chevreaux en diarrhée excrètent une très grande quantité d'ookystes qui sont immédiatement pathogènes pour les autres animaux du lot.

La contamination des chevreaux se fait probablement pendant les premières heures ou jours de vie. C'est pourquoi un soin particulier en matière d'hygiène doit être apporté autour de cette période.

Les pertes économiques peuvent être directes par la mortalité élevée qui peut survenir dans certains élevages mais également indirectes via les frais engagés (alimentation, médicaments, retard de croissance...).

Les mesures de désinfection citées dans la littérature sont difficilement applicables. La prophylaxie sanitaire semble être la meilleure solution pour limiter la contamination et la propagation de la maladie.

# BIBLIOGRAPHIE

ABUBAKAR I, ALIYU SH, ARUMUGAM C, USMAN NK, HUNTER PR (2007). Treatment of cryptosporidiosis in immunocompromised individuals: systematic review and meta-analysis. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 63 (4), 387–393.

ADJOU K (2011). Moins de cryptosporidies lors de vaccination contre les virus et bactéries. *Point Vét.*, 315, 56-59.

AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments) (2002). Rapport sur les « infections à protozoaires liées aux aliments et à l'eau » : « Évaluation scientifique des risques associés à *Cryptosporidium* sp », -185p.

AKIYAMA T, ISHIDA J, NAKAGAWA S, OGAWARA H, WATANABE SI, ITOH N et al. (1987). Genistein, a Specific Inhibitor of Tyrosine-specific Protein Kinases. *J. Biol. Chem.*, 262 (12), 5592-5595.

AL-MATHAL EM, ALSALEM AM (2012). Pomegranate (*Punica granatum*) peel is effective in a murine model of experimental *Cryptosporidium parvum*. *Exp. Parasitol.*, 131, 350–357.

ALMAWLY J, PRATTLE D, FRENCH NP, LOPEZ-VILLALOBOS N, HEDGESPETH B, GRINBERG A (2013). Utility of halofuginone lactate for the prevention of natural cryptosporidiosis of calves, in the presence of co-infection with rotavirus and *Salmonella typhimurium*. *Vet. Parasitol.*, In press.

ANDERSON BC (1998). Cryptosporidiosis in Bovine and Human Health. *J. Dairy Sci.*, 81 (11), 3036–3041.

APPELBEE AJ, THOMPSON RC, OLSON ME (2005). *Giardia* and *Cryptosporidium* in mammalian wildlife – current status and future needs. *Trends in Parasitol.*, 21 (8), 370-376.

ARMSON A, MELONI BP, REYNOLDSON JA, THOMPSON RA (1999). Assessment of drugs against *Cryptosporidium parvum* using a simple in vitro screening method. *FEMS Microbiology Letters*, 178, 227-233.

ARTZ JD, DUNFORD JE, ARROWOOD MJ, DONG A, CHRUSZCZ M, KAVANAGH KL et al. (2008). Targeting a Uniquely Nonspecific Prenyl Synthase with Bisphosphonates to Combat Cryptosporidiosis. *Chem. Biol.*, 15, 1296–1306.

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.

BENITEZ A, PRIEST JW, EHIGIATOR HN, McNAIR N, MEAD JR (2011). Evaluation of DNA encoding acidic ribosomal protein P2 of *Cryptosporidium parvum* as a potential vaccine candidate for cryptosporidiosis. *Vaccine*, 29 (49), 9239–9245.

BETANCOURT WQ, ROSE JB (2004). Drinking water treatment processes for removal of *Cryptosporidium* and *Giardia*. *Vet. Parasitol.*, 126, 219–234.

- BLAGBURN BL, DRAIN KL, LAND TM, KINARD RG, HUTTON MOORE P, LINDSAY DS et al. (1998). Comparative Efficacy Evaluation of Dicationic Carbazole Compounds, Nitazoxanide, and Paromomycin against *Cryptosporidium parvum* Infections in a Neonatal Mouse Model. *Antimicrob. Agents Ch.*, 42 (11), 2877–2882.
- BONNIN A, CAMERLYNCK P (1989). Cryptosporidiose humaine - Aspects épidémiologiques et cliniques. *Méd. Maladies Infect.*, 19, 35-41.
- BOULTER-BITZER JI, LEE H, TREVORS JT (2007). Molecular targets for detection and immunotherapy in *Cryptosporidium parvum*. *Biotechnol. Adv.*, 25, 13–44.
- BOURDAIS-MASSNET D (2008). Étude de la prévalence de la cryptosporidiose en élevage canin. Thèse Méd. Vét., Alfort.
- BRASSEUR P, LEMETEIL D, BALLETT JJ (1993). Curative and preventive anticryptosporidium activities of sinefungin in an immunosuppressed adult rat model. *Antimicrob. Agents Ch.*, 37 (4), 889-892.
- BURTON AJ, NYDAM DV, JONES G, ZAMBRISKI JA, LINDEN TC, COX G et al. (2011). Antibody responses following administration of a *Cryptosporidium parvum* rCP15/60 vaccine to pregnant cattle. *Vet. Parasitol.*, 175, 178–181.
- CAREY CM, LEE H, TREVORS JT (2004). Biology, persistence and detection of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis* oocyst. *Water Res.*, 38, 818-862.
- CASTRO IC, OLIVEIRA BB, SLOWIKOWSKI JJ, COUTINHO BP, SIQUEIRA FJ, COSTA LB et al. (2012). Arginine decreases *Cryptosporidium parvum* infection in undernourished suckling mice involving nitric oxide synthase and arginase. *Nutrition*, 28, 678–685.
- CASTRO-HERMIDA JA, ARES-MAZAS ME, NIETO-REYES L, OTERO ESPINAR F, BLANCO MENDEZ J (2001(a)). Inhibition of *Cryptosporidium* infection in mice treated with a cyclodextrin inclusion complex with diloxanide furoate. *Parasitol. Res.*, 87, 449-452.
- CASTRO-HERMIDA JA, QUILEZ-CINCA J, LOPEZ-BERNAD F, SANCHEZ-ACEDO C, FREIRE-SANTOS F, ARES-MAZAS E (2001(b)). Treatment with b-cyclodextrin of natural *Cryptosporidium parvum* infections in lambs under field conditions. *Int. J. Parasitol.*, 31, 1134-1137.
- CASTRO-HERMIDA JA, PORS I, OTERO-ESPINAR F, LUZARDO-ALVAREZ A, ARES-MAZAS E, CHARTIER C (2004). Efficacy of alpha-cyclodextrin against experimental cryptosporidiosis in neonatal goats. *Vet. Parasitol.*, 120, 35–41.
- CASTRO-HERMIDA JA, GARCIA-PRESEDO I, GONZALEZ-WARLETA M, MEZO M, FENOY S, RUEDA C et al. (2008). Activity of an anti-inflammatory drug against cryptosporidiosis in neonatal lambs. *Vet. Parasitol.*, 155, 308–313.
- CHALMERS RM, DAVIES AP (2010). Minireview: Clinical cryptosporidiosis. *Exp. Parasitol.*, 124, 138-146.

- CHALMERS RM, ELWIN K, HADFIELD SJ, ROBINSON G (2011). Sporadic Human Cryptosporidiosis Caused by *Cryptosporidium cuniculus*, United Kingdom, 2007–2008. *Emerg. Infect. Dis.*, 17(3), 536-538.
- CHARTIER C, PARAUD C (2010). La cryptosporidiose des ruminants. *Bull. GTV*, 52, 83-92.
- CHARTIER C, MALLEREAU MP, NACIRI M (1996). Prophylaxis using paromomycin of natural cryptosporidial infection in neonatal kids. *Prev. Vet. Med.*, 25, 357-361.
- CHEN F, HUANG K (2012). Effects of the Chinese medicine matrine on experimental *C. parvum* infection in BALB/c mice and MDBK cells. *Parasitol. Res.*, 111, 1827–1832.
- CONSTABLE PD (2009). Treatment of Calf Diarrhea : Antimicrobial and Ancillary Treatments. *Vet. Clin. Food Anim.*, 25, 101-120.
- CTRNACTA V, FRITZLER JM, SURINOVA M, HRDY I, ZHU G, STEJSKAL F (2010). Efficacy of S-adenosylhomocysteine hydrolase inhibitors, D-eritadenine and (S)-DHPA, against the growth of *Cryptosporidium parvum* in vitro. *Exp. Parasitol.*, 126, 113–116.
- DE GRAAF DC, VANOPDENBOSCH E, ORTEGA-MORA LM, ABBASSI H, PEETERS J. E (1999(a)). A review of the importance of cryptosporidiosis in farm animals. *Int. J. Parasitol.*, 29, 1269-1287.
- 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.
- DE WAELE V, SPEYBROECK N, BERKVEN D, MULCAHY G, MURPHY TM (2010). Control of cryptosporidiosis in neonatal calves: Use of halofuginone lactate in two different calf rearing systems. *Prev. Vet. Med.*, 96, 143-151.
- DE WAELE V, BERZANO M, BERKVEN D, SPEYBROECK N, LOWERY C, MULCAHY GM et al. (2011). Age-stratified Bayesian analysis to estimate sensitivity and specificity of four diagnostic tests for detection of *Cryptosporidium* oocysts in neonatal calves. *J. Clin. Microbiol.*, 49 (1), 76-84.
- DIAZ PEROMINGO JA, MARINO CALLEJO A, GARCIA RODRIGUEZ JF, GONZALEZ GONZALEZ C, AMENEIROS LAGO ME, CASTRO ALVARINO J et al. (1999). Eradication of AIDS-related gastric cryptosporidiosis with azithromycin. *European Journal of Internal Medicine*, 10, 220–222.
- DIAZ P, QUILEZ J, ROBINSON G, CHALMERS RM, DIEZ-BANOS P, MORRONDO P (2010). Identification of *Cryptosporidium xiaoi* in diarrhoeic goat kids (*Capra hircus*) in Spain. *Vet. Parasitol.*, 172, 132-134.
- DOWNEY AS, CHONG CR, GRACZYK TK, SULLIVAN DJ (2008). Efficacy of Pyrvinium Pamoate against *Cryptosporidium parvum* Infection In Vitro and in a Neonatal Mouse Model. *Antimicrob. Agents Ch.*, 52 (9), 3106–3112.

- EHIGIATOR HN, ROMAGNOLI P, PRIEST JW, EVAN SECOR W, MEAD JR (2007). Induction of murine immune responses by DNA encoding a 23-kDa antigen of *Cryptosporidium parvum*. *Parasitol. Res.*, 101, 943–950.
- ELITOK B, ELITOK ÖM, PULAT H (2005). Efficacy of Azithromycin Dihydrate in Treatment of Cryptosporidiosis in Naturally Infected Dairy Calves. *J. Vet. Intern. Med.*, 19, 590–593.
- ELWIN K, HADFIELD SJ, ROBINSON G, CROUCH ND, CHALMERS RM (2012). *Cryptosporidium viatorum* n. sp. (Apicomplexa : Cryptosporidiidae) among travelers returning to Great Britain from Indian subcontinent, 2007-2011. *Int. J. Parasitol.*, 42 (7), 675-682.
- FAYER R (2004). *Cryptosporidium* : a water-borne zoonotic parasite. *Vet. Parasitol.*, 126, 37-56.
- FAYER R (2010). Taxonomy and species delimitation in *Cryptosporidium*. *Exp. Parasitol.*, 124, 90-97.
- FAYER R, UNGAR BL (1986). *Cryptosporidium* spp and cryptosporidiosis. *Microbiol. Rev.*, 50 (4), 458-483.
- FAYER R, ELLIS W (1993). Paromomycin Is Effective as Prophylaxis for Cryptosporidiosis in Dairy Calves. *J. Parasitol.*, 79 (5), 771-774.
- FAYER R, SANTIN M (2009). *Cryptosporidium xiaoi* n. sp. (Apicomplexa : Cryptosporidiidae) in sheep (*Ovis aries*). *Vet. Parasitol.*, 164, 192-200.
- FAYER R, MORGAN U, UPTON SJ (2000). Epidemiology of *Cryptosporidium* : transmission, detection and identification. *Int. J. Parasitol.*, 30, 1305-1322.
- FAYER R, SANTIN M, TROUT JM (2008). *Cryptosporidium ryanae* n. sp. (Apicomplexa : Cryptosporidiidae) in cattle (*Bos taurus*). *Vet. Parasitol.*, 156, 191-198.
- FAYER R, SANTIN M, MACARISIN D (2010). *Cryptosporidium ubiquitum* n. sp. in animals and humans. *Vet. Parasitol.*, 172, 23-32.
- FERRE I, BENITO-PENA A, GARCIA U, OSORO K, ORTEGA-MORA LM (2005). Effect of different decoquinat treatments on cryptosporidiosis in naturally infected cashmere goat kids. *Vet. Rec.*, 157, 261-262.
- FOX LM, SARAVOLATZ LD (2005). Nitazoxanide: A New Thiazolide Antiparasitic Agent. *Clin. Infect. Dis.*, 40, 1173–1180.
- FRITZLER JM, ZHU G (2012). Novel anti-*Cryptosporidium* activity of known drugs identified by high-throughput screening against parasite fatty acyl-CoA binding protein (ACBP). *J. Antimicrob. Chemoth.*, 67, 609–617.
- GAAFAR MR (2012). Efficacy of *Allium sativum* (garlic) against experimental cryptosporidiosis. *Alexandria Journal of Medicine*, 48, 59–66.
- GARGALA G, DELAUNAYA A, FAVENNEC L, BRASSEUR P, BALLEST J (1999). Enzyme immunoassay detection of *Cryptosporidium parvum* inhibition by sinefungin in sporozoite infected HCT-8 enterocytic cells. *Int. J. Parasitol.*, 29, 703-709.



- GARGALA G, DELAUNAY A, LI X, BRASSEUR P, FAVENNEC L, BALLETT JJ (2000). Efficacy of nitazoxanide, tizoxanide and tizoxanide glucuronide against *Cryptosporidium parvum* development in sporozoite-infected HCT-8 enterocytic cells. *J. Antimicrob. Chemoth.*, 46, 57-60.
- GARGALA G, LE GOFF L, BALLETT JJ, FAVENNEC L, STACHULSKI AV, ROSSIGNOL JF (2010). Evaluation of New Thiazolide/Thiadiazolide Derivatives Reveals Nitro Group-Independent Efficacy against In Vitro Development of *Cryptosporidium parvum*. *Antimicrob. Agents Ch.*, 54 (3), 1315–1318.
- GAVRIILIDOU D, BRIDLE H (2012). Comparison of immobilization strategies for *Cryptosporidium parvum* immunosensors. *Biochem. Eng. J.*, 68, 231-235.
- GIACOMETTI A, CIRIONI O, SCALISE G (1996). In-vitro activity of macrolides alone and in combination with artemisin, atovaquone, dapsone, minocycline or pyrimethamine against *Cryptosporidium parvum*. *J. Antimicrob. Chemoth.*, 38, 399-408.
- GIACOMETTI A, BURZACCHINI F, CIRIONI O, BARCHIESI F, DINI M, SCALISE G (1999). Efficacy of Treatment with Paromomycin, Azithromycin, and Nitazoxanide in a Patient with Disseminated Cryptosporidiosis. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 18, 885–889.
- GIADINIS ND, PAPADOPOULOS E, LAFIC SQ, PANOUSIS NK, PAPAZHARIADOU M, KARATZIAS H (2008). Efficacy of halofuginone lactate for the treatment and prevention of cryptosporidiosis in goat kids : An extensive field trial. *Small Ruminant Res.*, 76, 195–200.
- GOMEZ-COUSO H, FONTAN-SAINZ M, FERNANDEZ-IBANEZ P, ARES-MAZAS E (2012). Speeding up the solar water disinfection process (SODIS) against *Cryptosporidium parvum* by using 2.5 l static solar reactors fitted with compound parabolic concentrators (CPCs). *Acta. Trop.*, In press.
- GRACZYK TK, CRANFIELD MR, HELMER P, FAYER R, BOSTWICK EF (1998). Therapeutic efficacy of hyperimmune bovine colostrum treatment against clinical and subclinical *Cryptosporidium serpentis* infections in captive snakes. *Vet. Parasitol.*, 74, 123–132.
- GRACZYK Z, CHOMICZ L, KOZLOWSKA M, KAZIMIERCZUK Z, GRACZYK TK (2011). Novel and promising compounds to treat *Cryptosporidium parvum* infections. *Parasitol. Res.*, 109, 591–594.
- GRIFFITHS JK (1998). Human Cryptosporidiosis: Epidemiology, Transmission, Clinical Disease, Treatment, and Diagnosis. *Adv. Parasit.*, 40, 37-49.
- GRINBERG A, MARKOVICS A, GALINDEZ J, LOPEZ-VILLALOBOS N, KOSAK A, TRANQUILLO V (2002). Controlling the onset of natural cryptosporidiosis in calves with paromomycin sulphate. *Vet. Rec.*, 151, 606-608.
- GUYOT K, SARFATI C, DEROUIN F (2012). Actualités sur l'épidémiologie et le diagnostic de la cryptosporidiose. *Feuillets Biol.*, 304, 21-29.
- HAHN NE, CAPUANO SV (2010). Successful Treatment of Cryptosporidiosis in 2 Common Marmosets (*Callithrix jacchus*) by Using Paromomycin. *J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci.*, 49 (6), 873–875.

- HARP JA, GOFF JP (1995). Protection of Calves with a Vaccine against *Cryptosporidium parvum*. *J. Parasitol.*, 81 (1), 54-57.
- HE H, ZHAO B, LIU L, ZHOU K, QIN X, ZHANG Q et al. (2004). The Humoral and Cellular Immune Responses in Mice Induced by DNA Vaccine Expressing the Sporozoite Surface Protein of *Cryptosporidium parvum*. *DNA Cell Biol.*, 23 (5), 335–339.
- HEMPHILL A, MUELLER J, ESPOSITO M (2006). Nitazoxanide, a broad-spectrum thiazolide anti-infective agent for the treatment of gastrointestinal infections. *Expert. Opin. Pharmacother.*, 7 (7), 953-964.
- HEWITT RG, YIANNOUTSOS CT, HIGGS ES, CAREY JT, JAN GEISELER P, SOAVE R et al. (2000). Paromomycin: No More Effective than Placebo for Treatment of Cryptosporidiosis in Patients with Advanced Human Immunodeficiency Virus Infection. *Clin. Infect. Dis.*, 31, 1084–1092.
- HOLMBERG SD, MOORMAN AM, VON BARGEN JC, PALELLA FJ, LOVELESS MO, WARD DJ et al. (1998). Possible effectiveness of Clarithromycin and Rifabutin for Cryptosporidiosis chemoprophylaxis in HIV disease. *JAMA*, 279 (5), 384-386.
- HUNT E, FU Q, ARMSTRONG MU, RENNIX DK, WEBSTER DW, GALANKO JA et al. (2002). Oral Bovine Serum Concentrate Improves Cryptosporidial Enteritis in Calves. *Pediatr. Res.*, 51 (3), 370-376.
- IMBODEN M, SCHAEFER DA, BREMEL RD, JANE HOMAN E, RIGGS MW (2012). Antibody fusions reduce onset of experimental *Cryptosporidium parvum* infection in calves. *Vet. Parasitol.*, 188, 41– 47.
- JARVIE BD, TROTZ-WILLIAMS LA, McKNIGHT DR, LESLIE KE, WALLACE MM, TODD CG et al. (2005). Effect of Halofuginone Lactate on the Occurrence of *Cryptosporidium parvum* and Growth of Neonatal Dairy Calves. *J. Dairy Sci.*, 88 (5), 1801–1806.
- JENKINS MC, O'BRIEN C, TROUT J, GUIDRY A, FAYER R (1998). Hyperimmune bovine colostrum specific for recombinant *Cryptosporidium parvum* antigen confers partial protection against cryptosporidiosis in immunosuppressed adult mice. *Vaccine*, 17, 2453-2460.
- 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.
- 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.
- JOACHIM A, KRULL T, SCHWARZKOPF J, DAUGSCHIES A (2003). Prevalence and control of bovine cryptosporidiosis in German dairy herds. *Vet. Parasitol.*, 112, 277–288.

- JOHNSON EH, WINDSOR JJ, MUIRHEAD DE, KING GJ, AL-BUSAIDY R (2000). Confirmation of the Prophylactic Value of Paromomycin in a Natural Outbreak of Caprine Cryptosporidiosis. *Vet. Res. Commun.*, 24, 63-67.
- KAYSER O, RAY WATERS W, WOODS KM, UPTON SJ, KEITHLY JS, LAATSCH H et al. (2002). Evaluation of in vitro and in vivo activity of benzindazole-4,9-quinones against *Cryptosporidium parvum*. *J. Antimicrob. Chemoth.*, 50, 975–980.
- KEIDEL J, DAUGSCHIES A (2013). Integration of halofuginone lactate treatment and disinfection with p-chloro-m-cresol to control natural cryptosporidiosis in calves. *Vet. Parasitol.*, In press.
- KING BJ, MONIS PT (2006). Critical processes affecting *Cryptosporidium* oocyst survival in the environment. *Parasitology*, 134, 309-323.
- KIRUBAKARAN S, KUMAR GORLA S, SHARLING L, ZHANG M, LIU X, RAY SS et al. (2012). Structure–activity relationship study of selective benzimidazole-based inhibitors of *Cryptosporidium parvum* IMPDH. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 22, 1985–1988.
- KLEIN P (2008). Preventive and therapeutic efficacy of halofuginone-lactate against *Cryptosporidium parvum* in spontaneously infected calves : A centralised, randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Vet. J.*, 177, 429–431.
- KLEIN P, CIRIONI O, GIACOMETTI A (2008). In vitro and in vivo activity of aurintricarboxylic acid preparations against *Cryptosporidium parvum*. *J. Antimicrob. Chemoth.*, 62, 1101–1104.
- KVAC M, KOUBA M, VITOVEC J (2006). Age-related and housing dependence of *Cryptosporidium* infection of calves from dairy and beef herds in South Bohemia, Czech Republic. *Vet. Parasitol.*, 137, 202-209.
- LALLEMOND M, VILLENEUVE A, BELDA J, DUBREUIL P (2006). Field study of the efficacy of halofuginone and decoquinate in the treatment of cryptosporidiosis in veal calves. *Vet. Rec.*, 159, 672-677.
- LECONTE M (2013). Le point sur la cryptosporidiose des Ruminants et les risques zoonotiques. Thèse Méd. Vét., Alfort.
- LEFAY D, NACIRI M, POIRIER P, CHERMETTE R (2001). Efficacy of halofuginone lactate in the prevention of cryptosporidiosis in suckling calves. *Vet. Rec.*, 148, 108-112.
- LI X, BRASSEUR P, AGNAMEY P, LEMETEIL D, FAVENNEC L, BALLETT JJ et al. (2003). Long-lasting anticryptosporidial activity of nitazoxanide in an immunosuppressed rat model. *Folia Parasit.*, 50, 19-22.
- LINDER MR, HECKEROTH AR, NAJDROWSKI M, DAUGSCHIES A, SCHOLLMAYER D, MICULKA C (2007). (2R,3S)-(+)- and (2S,3R)-(-)-Halofuginone lactate: Synthesis, absolute configuration, and activity against *Cryptosporidium parvum*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 17, 4140–4143.

- LINDSAY DS, UPTON SJ, OWENS DS, MORGAN UM, MEAD JR, BLAGBURN BL (2000(a)). *Cryptosporidium andersoni* n. sp. (Apicomplexa : Cryptosporiidae) from cattle, *Bos taurus*. *J. Eukaryot. Microbiol.*, 47(1), 91-5.
- LINDSAY DS, WOODS KM, UPTON SJ, BLAGBURN BL (2000(b)). Activity of decoquinate against *Cryptosporidium parvum* in cell cultures and neonatal mice. *Vet. Parasitol.*, 89, 307–311.
- LUZARDO ALVAREZ A, BLANCO GARCIA E, GUERRERO CALLEJAS F, GOMEZ COUSO H, BLANCO MENDEZ J (2012). In vitro evaluation of the suppressive effect of chitosan/poly(vinyl alcohol) microspheres on attachment of *C. parvum* to enterocytic cells. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 47, 215–227.
- MAKOSCHEY B, ELVIRA PARTIDA L, GONZALEZ MARTIN JV, FILIPINI (2012). Guide pratique de diagnostic : Les diarrhées néonatales. MSD Santé Animale.
- MANCASSOLA R, REPERANT JM, NACIRI M, CHARTIER C (1995). Chemoprophylaxis of *Cryptosporidium parvum* Infection with Paromomycin in Kids and Immunological Study. *Antimicrob. Agents Ch.*, 39 (1), 75-78.
- MANCASSOLA R, RICHARD A, NACIRI M (1997). Evaluation of decoquinate to treat experimental cryptosporidiosis in kids. *Vet. Parasitol.*, 69, 31-37.
- MANGIN R (2002). Transfert d'immunité colostrale chez le veau (Etude bibliographique). Thèse Méd. Vét., Alfort.
- MARSHALL RJ, FLANIGAN TP (1992). Paromomycin Inhibits *Cryptosporidium* Infection of a Human Enterocyte Cell Line. *J. Infect. Dis.*, 165, 772-774.
- MARTIN-GOMEZ S, ALVAREZ-SANCHEZ MA, ROJO-VAZQUEZ FA (2005). Immunization protocols against *Cryptosporidium parvum* in ovines: protection in suckling lambs. *Vet. Parasitol.*, 129, 11–20.
- McDONALD V, STABLES R, WARHURST DC, BARER MR, BLEWETT DA, CHAPMAN HD et al. (1990). In Vitro Cultivation of *Cryptosporidium parvum* and Screening for Anticryptosporidial Drugs. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 34 (8), 1498-1500.
- McKERROW JH, ROSENTHAL PJ, SWENERTON R, DOYLE P (2009). Development of protease inhibitors for protozoan infections. *PMC*, 21 (6), 668–672.
- MEAD JR (2002). Cryptosporidiosis and the challenges of chemotherapy. *Drug Resist. Update*, 5, 47–57.
- MEAD JR (2010). Challenges and prospects for a *Cryptosporidium* vaccine. *Future Microbiol.*, 5 (3), 335–337.
- MERRY RJ, MAWDSLEY JL, BROOKS AE, DAVIES DR (1997). Viability of *Cryptosporidium parvum* during ensilage of perennial ryegrass. *J. Appl. Microbiol.*, 82, 115-120.
- MILLAR BC, FINN M, XIAO L, LOWERY CJ, DOOLEY JS, MOORE JE (2002). *Cryptosporidium* in foodstuffs—an emerging aetiological route of human foodborne illness. *Trends Food Sci. Tech.*, 13, 168–187.

- MOORE DA, ATWILL ER, KIRK JH, BRAHMBHATT D, HERRERA ALONSO L, HOU L et al. (2003). Prophylactic use of decoquinate for infections with *Cryptosporidium parvum* in experimentally challenged neonatal calves. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 223 (6), 839-845.
- MORGAN UM, XIAO L, FAYER R, LAL AA, THOMPSON RC (1999). Variation in *Cryptosporidium* : towards a taxonomic revision of the genus. *Int. J. Parasitol.*, 29, 1733-1751.
- MULLER J, WASTLING J, SANDERSON S, MULLER N, HEMPHILL A (2007). A Novel *Giardia lamblia* Nitroreductase, GINR1, Interacts with Nitazoxanide and Other Thiazolides. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 51 (6), 1979–1986.
- NACIRI M, MANCASSOLA R, YVORE P, PEETERS J (1993). The effect of halofuginone lactate on experimental *Cryptosporidium parvum* infections in calves. *Vet. Parasitol.*, 45, 199-207.
- NACIRI M, MANCASSOLA R, REPERANT J, CANIVEZ O, QUINQUE B, YVORE P (1994). Treatment of experimental ovine cryptosporidiosis with ovine or bovine hyperimmune colostrum. *Vet. Parasitol.*, 53, 173-190.
- 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.
- NACIRI M, MANCASSOLA R, FORT G, DANNEELS B, VERHAEGHE J (2011). Efficacy of amine-based disinfectant KENOTMCOX on the infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocysts. *Vet. Parasitol.*, 179, 43–49.
- NAJDROWSKI M, HECKEROTH AR, WACKWITZ C, GAWLOWSKA S, MACKENSTEDT U, KLIEMT D et al. (2007(a)). Development and validation of a cell culture based assay for in vitro assessment of anticryptosporidial compounds. *Parasitol. Res.*, 101, 161–167.
- 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.
- NICHOLS RA, CONNELLY L, SULLIVAN CB, SMITH HV (2010). Identification of *Cryptosporidium* species and genotypes in Scottish raw and drinking waters during a one-year monitoring period. *Appl. Environ. Microbiol.*, 76 (17), 5977-5986.
- O'DONOGHUE PJ (1995). *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis in Man and Animals. *Int. J. Parasitol.*, 25, 139-195.
- OLLIVETT TL, NYDAM DV, BOWMAN DD, ZAMBRISKI JA, BELLOSA ML, LINDEN TC et al. (2009). Effect of nitazoxanide on cryptosporidiosis in experimentally infected neonatal dairy calves. *J. Dairy Sci.*, 92 (4), 1643–1648.
- PAOLETI A (2002). Données récentes sur la transmission des cryptosporidioses animales à l'Homme. Thèse Méd. Vét., Toulouse.
- PARAUD C, CHARTIER C (2012). Cryptosporidiosis in small ruminants. *Small Ruminant Res.*, 103, 93-97.

- PARAUD C, PORS I, CHARTIER C (2010). Evaluation of oral tilmicosin efficacy against severe cryptosporidiosis in neonatal kids under field conditions. *Vet. Parasitol.*, 170, 149–152.
- PARAUD C, PORS I, JOURNAL JP, BESNIER P, REISDORFFER L, CHARTIER C (2011). Control of cryptosporidiosis in neonatal goat kids : Efficacy of a product containing activated charcoal and wood vinegar liquid (Obioneck®) in field conditions. *Vet. Parasitol.*, 180, 354– 357.
- PEETERS JE, VILLACORTA I, NACIRI M, VANOPDENBOSCH E (1993). Specific serum and local antibody responses against *Cryptosporidium parvum* during medication of calves with halofuginone lactate. *Infect. Immun.*, 61 (10), 4440-4445.
- PEREZ-CORDON G, NIE W, SCHMIDT D, TZIPORI S, FENG H (2011). Involvement of host calpain in the invasion of *Cryptosporidium parvum*. *Microbes Infect.*, 13 (1), 103-107.
- PERRUCCI S, FICHI G, BUGGIANI C, ROSSI G, FLAMINI G (2006). Efficacy of mangiferin against *Cryptosporidium parvum* in a neonatal mouse model. *Parasitol. Res.*, 99, 184–188.
- PERRYMAN LE, KAPIL SJ, JONES ML, HUNT EL (1999). Protection of calves against cryptosporidiosis with immune bovine colostrum induced by a *Cryptosporidium parvum* recombinant protein. *Vaccine*, 17, 2142-2149.
- PUTIGNANI L, MENICHELLA D (2010). Global Distribution, Public Health and Clinical Impact of the Protozoan Pathogen *Cryptosporidium*. *Interdiscipl. Perspect. Infect. Dis.*, 1-39.
- 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.
- REHG JE (1991). Activity of Azithromycin against *Cryptosporidia* in Immunosuppressed Rats. *J. Infect. Dis.*, 163, 1293-1296.
- REHG JE (1995). The activity of halofuginone in immunosuppressed rats infected with *Cryptosporidium parvum*. *J. Antimicrob. Chemoth.*, 35, 391-397.
- ROSSIGNOL JF (2006). Nitazoxanide in the treatment of acquired immune deficiency syndrome-related cryptosporidiosis: results of the United States compassionate use program in 365 patients. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 24, 887–894.
- ROSSIGNOL JF (2010). *Cryptosporidium* and *Giardia*: Treatment options and prospects for new drugs. *Exp. Parasitol.*, 124, 45-53.
- ROSSIGNOL JF, HIDALGO H, FERREGRINO M, HIGUERA F, GOMEZ WH, ROMERO J L et al. (1998). A double-‘blind’ placebo-controlled study of nitazoxanide in the treatment of cryptosporidial diarrhoea in AIDS patients in Mexico. *T. Roy. Soc. Trop. Med. H.*, 92, 663-666.
- ROSSIGNOL JF, AYOUB A, AYERS MS (2001). Treatment of diarrhea caused by *Cryptosporidium parvum* : a prospective randomized, double-blind, placebo-controlled study of Nitazoxanide. *J. Infect. Dis.*, 184, 103-106.
- RUEDA C, FENOY S, SIMON F, DEL AGUILA C (2008). Bobel-24 Activity against *Cryptosporidium parvum* in Cell Culture and in a SCID Mouse Model. *Antimicrob. Agents Ch.*, 52 (3), 1150–1152.

- SAGODIRA S, BUZONI-GATEL D, IOCHMANN S, NACIRI M, BOUT D (1999). Protection of kids against *Cryptosporidium parvum* infection after immunization of dams with CP15-DNA. *Vaccine*, 17, 2346-2355.
- SAINI PK, RANSOM G, McNAMARA AM (2000). Emerging public health concerns regarding cryptosporidiosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 217 (5), 658-663.
- SANTIN M, TROUT JM, XIAO L, ZHOU L, GREINER E, FAYER R (2004). Prevalence and age-related variation of *Cryptosporidium* species and genotypes in dairy calves. *Vet. Parasitol.*, 122, 103-117.
- 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.
- SCHMIDT J, KUHLENSCHMIDT MS (2008). Microbial adhesion of *Cryptosporidium parvum*: Identification of a colostrum-derived inhibitory lipid. *Mol. Biochem. Parasit.*, 162, 32–39.
- SCHNYDER M, KOHLER L, HEMPHILL A, DEPLAZES P (2009). Prophylactic and therapeutic efficacy of nitazoxanide against *Cryptosporidium parvum* in experimentally challenged neonatal calves. *Vet. Parasitol.*, 160, 149–154.
- SHAHIDUZZAMAN M, DAUGSCHIES A (2012). Therapy and prevention of cryptosporidiosis in animals. *Vet. Parasitol.*, In press.
- SHAHIDUZZAMAN M, DYACHENKO V, KHALAFALLA RE, DESOUKY AY, DAUGSCHIES A (2009(a)). Effects of curcumin on *Cryptosporidium parvum* in vitro. *Parasitol. Res.*, 105, 1155–1161.
- SHAHIDUZZAMAN M, DYACHENKO V, OBWALLER A, UNGLAUBE S, DAUGSCHIES A (2009(b)). Combination of cell culture and quantitative PCR for screening of drugs against *Cryptosporidium parvum*. *Vet. Parasitol.*, 162, 271-277.
- 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.
- SILVERLAS C, BJORKMAN C, EGENVALL A (2009). Systematic review and meta-analyses of the effects of halofuginone against calf cryptosporidiosis. *Prev. Vet. Med.*, 91, 73–84.
- SIMON DM, CELLO JP, VALENZUELA J, LEVY R, DICKERSON G, GOODGAME R et al. (1995). Multicenter Trial of Octreotide in Patients With Refractory Acquired Immunodeficiency Syndrome-Associated Diarrhea. *Gastroenterology*, 108, 1753-1760.
- SKERRETT HE, HOLLAND CV (2001). Asymptomatic shedding of *Cryptosporidium* oocysts by red deer hinds and calves. *Vet. Parasitol.*, 94, 239-46.
- SLAPETA J (2012). Letter: The name *Cryptosporidium tyzzeri* Ren, Zhao, Zhang, Ning, Jian, Wang, Lv, Wang, Arrowood and Xiao, 2012 is permanently invalid. *Exp. Parasitol.*, In press.
- SMITH BP (2008). *Large Animals Internal Medicine*. 4th edition. Saint-Louis: Mosby Elsevier, MO, 340-357.

SMITH HV, NICHOLS RA (2010). Cryptosporidium : Detection in water and food. *Exp. Parasitol.*, 124, 61-79.

SOARES AJ (2003). Epidémiologie des épidémies alimentaires à *Cryptosporidium parvum*. Thèse Méd. Vét., Lyon.

STACHULSKI AV, BERRY NG, LILIAN LOW AC, MOORES SL, ROW E, WARHURST DC et al. (2006). Identification of Isoflavone Derivatives as Effective Anticryptosporidial Agents in Vitro and in Vivo. *J. Med. Chem.*, 49, 1450-1454.

TAKASHIMA Y, XUAN X, KIMATA I, ISEKI M, KODAMA Y, NAGANE N et al. (2003). Recombinant Bovine Herpesvirus-1 Expressing p23 Protein of *Cryptosporidium parvum* induces Neutralizing Antibodies in Rabbits. *J. Parasitol.*, 89 (2), 276-282.

TEMIZEL EM, SENTURK SS, GIRISGIN O, SENLIK B, DEMIR G (2011). Efficacy of Tylosine against Clinical Cryptosporidiosis in Goat Kids. *Pak. Vet. J.*, 31 (4), 351-353.

THEODOS CM, GRIFFITHS JK, D'ONFRO J, FAIRFIELD A, TZIPORI S (1998). Efficacy of Nitazoxanide against *Cryptosporidium parvum* in Cell Culture and in Animal Models. *Antimicrob. Agents Ch.*, 42 (8), 1959-1965.

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.

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.

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.

TROTZ-WILLIAMS LA, JARVIE BD, PEREGRINE AS, DUFFIELD TF, LESLIE KE (2011). Efficacy of halofuginone lactate in the prevention of cryptosporidiosis in dairy calves. *Vet. Rec.*, 168 (509).

TZIPORI S (1998). Cryptosporidiosis: Laboratory Investigations and Chemotherapy. *Adv. Parasit.*, 40, 187-221.

TZIPORI S, WIDMER G (2008). A hundred-year retrospective on cryptosporidiosis. *Trends Parasitol.*, 24(4), 184-189.

TZIPORI SR, CAMPBELL I, ANGUS KW (1982). The therapeutic effect of 16 antimicrobial agents on *Cryptosporidium* infection in mice. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.*, 60 (2), 187-190.

TZIPORI S, RAND W, GRIFFITHS J, WIDMER G, CRABB J (1994). Evaluation of an Animal Model System for Cryptosporidiosis : Therapeutic Efficacy of Paromomycin and Hyperimmune Bovine Colostrum-Immunoglobulin. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 1 (4), 450-463.



- VERDON R, POLIANSKI J, GAUDEBOUT C, MARCHE C, GARRY L, CARBON C et al. (1995). Evaluation of High-Dose Regimen of Paromomycin against Cryptosporidiosis in the Dexamethasone-Treated Rat Model. *Antimicrob. Agents Ch.*, 39 (9), 2155–2157.
- VIEL H, ROCQUES H, MARTIN J, CHARTIER C (2007). Efficacy of nitazoxanide against experimental cryptosporidiosis in goat neonates. *Parasitol. Res.*, 102, 163–166.
- VILLACORTA I, PEETERS JE, VANOPDENBOSCH E, ARES-MAZAS E, THEYS H (1991). Efficacy of Halofuginone Lactate against *Cryptosporidium parvum* in Calves. *Antimicrob. Agents Ch.*, 35 (2), 283-287.
- VIU M, QUILEZ J, SANCHEZ-ACEDO C, DEL CACHO E, LOPEZ-BERNAD F (2000). Field trial on the therapeutic efficacy of paromomycin on natural *Cryptosporidium parvum* infections in lambs. *Vet. Parasitol.*, 90, 163–170.
- WANG C, LUO J, AMER S, GUO Y, HU Y, LU Y et al. (2011). Multivalent DNA vaccine induces protective immune responses and enhanced resistance against *Cryptosporidium parvum* infection. *Vaccine*, 29, 323–328.
- WATARAI, S., TANA, & KOIWA, M. (2008). Feeding Activated Charcoal from Bark Containing Wood Vinegar Liquid (Nekka-Rich) Is Effective as Treatment for Cryptosporidiosis in Calves. *Journal of Dairy Science* , 91 (4), pp. 1458–1463.
- WU L, JIANG XG, SHEN YJ, LU ZX, TU GH, FU XL et al. (2011). Efficacy of ginkgolic acids against *Cryptosporidium andersoni* in cell culture. *Parasitol. Res.*, 109, 1475–1479.
- WYATT CR, RIGGS MW, FAYER R (2010). Cryptosporidiosis in neonatal calves. *Vet. Clin. Food Anim.*, 26, 89-103.
- XIAO L (2010). Molecular epidemiology of cryptosporidiosis: An update. *Exp. Parasitol.*, 124, 80-89.
- XIAO L, FAYER R (2008). Molecular characterization of species and genotypes of *Cryptosporidium* and *Giardia* and assessment of zoonotic transmission. *Int. J. Parasitol.*, 38, 1239-1255.
- XIAO L, MORGAN UM, FAYER R, THOMPSON RC, LAL AA (2000). *Cryptosporidium* systematic and implication for public health. *Parasitol. Today*, 16 (7), 287-292.
- XIAO L, FAYER R, RYAN U, UPTON SJ (2004). *Cryptosporidium* Taxonomy: Recent Advances and Implications for Public Health. *Clin. Microbiol. Rev.*, 17, 72-97.
- ZARDI EM, PICARDI A, AFELTRA A (2005). Treatment of Cryptosporidiosis in Immunocompromised Hosts. *Chemotherapy*, 51, 193–196.