



Institut des Sciences
Vétérinaires- Blida

Université Saad
Dahlab-Blida 1-



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

**Etude de la cryptosporidiose chez l'espèce
*Oryctolagus cuniculus domesticus***

Présenté par

AICHE Mebarka

HOCINE Assia

Devant le jury :

Président(e) :	SALHI O.	MAA	ISV Blida
Examineur :	ZIAM H.	MCB	ISV Blida
Promoteur :	ABDELLAOUI L.	MAA	ISV Blida
Co-promoteur :	MEBKHOUT F.	Dr Vétérinaire	ITELV

Année : 2016/2017.

Remerciements

Avant tout al hamdo lillah qui nous aide de faire ce projet de fin d'étude.

A :

Dr. ABDELLAOUI Lynda d'avoir accepté d'être notre promoteur et qui a su orienter efficacement nos recherches et sans qui ce travail n'aurait été qu'un inventaire de connaissances épaisses

A :

Pr. SALHI Omar qui a fait l'honneur de présider notre jury
Et ZIAM Hocine d'avoir accepté d'examiner notre travail.

A :

Dr. Vétérinaire MEBKHOUT Faïza pour tous les efforts qu'il a déployés.

Nos remerciements s'adressent aussi à tous nos enseignants depuis le primaire jusqu'à l'université.

Dédicace

À les plus belles créatures que dieu à créés sur terre à ces sources de tendresse, de patiences et de générosité

À ma mère ;

À mes chères sœurs : Akila, Maria, Chaimaa.

À mes frères : Aïmen, Nour Ed Dine, Maamoune et Sofiane.

À toute mes amies et collègues : Karima, Khadija, Radia, Daïla, Fadhila, Nawel, Nassima.

À tout les étudiants de la promotion 2016/2017.

À ma binôme et toute sa famille.

Sincère remerciement

AMINA

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

A L'homme de ma vie ; mon exemple éternel ; mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu te garde dans son vaste paradis, à toi mon père

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur, Maman que j'adore.

Surtout personnes dont j'ai bien aimé la présence dans ce jour, à tous mes frères et mes sœurs (Toufik, Azd, Abk, hamza, Ilya, Ratiba, Hassiba surtout Rima)

A tous ma famille

A tous mes amies

A ma binôme et toute sa famille AMINA.

Sincère remerciement

ASSIA

Résumé :

Une enquête préliminaire est initiée à la ferme expérimentale de l'Institut Technique des Élevages de Baba Ali afin de fournir certaines données sur l'infection cryptosporidienne dans l'espèce cunicole en Algérie.

Un total de 38 frottis de côlon prélevés sur des lapins sevrés destinés à l'engraissement, de race synthétique ont été analysés.

La recherche des oocystes de *Cryptosporidium* a été réalisée selon la technique de coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz. Les frottis ont fait l'objet d'une observation microscopique on se basant sur l'appréciation des caractères morphométriques. La lecture est faite au microscope optique au Gx 100.

Les résultats obtenus indiquent une prévalence très élevée dans les frottis de côlon (76.31%) avec un degré d'infestation important (31.57% massive et 44.73% moyenne). Le facteur sexe semble n'avoir aucuns rôles sur la prévalence de la maladie.

Cette étude montre la fréquence de la cryptosporidiose dans l'espèce cunicole, ce qui implique un dépistage systématique du parasite lors d'examens et contrôle de routine.

Mots clés : *Cryptosporidium*, *Oryctolagus cuniculus domesticus*, prévalence, degré d'infestation, microscope optique.

ملخص

في إطار بحث أولي في المزرعة التجريبية للمعهد التقني لتربية الحيوانات ببابا علي و ذلك للتزود بالمعلومات الأولية حول عدوى الكريبتوسبورديوزية عند فصيلة الأرانب في الجزائر.

في الإجماع و بعد دراسة 38 عينة أخذت من أرانب مبطومة موجهة للتسمين من سلالة هجينة . أثناء البحث عن بيوض الكريبتوسبوردييوم اعتمدنا على تقنية التلوين لزيل-نلسن المحسنة من طرف هنركسن-ولنز(1981). تحليل العينات تم بواسطة المجهر الضوئي بتكبير Gx100 على مستوى معهد العلوم البيطرية في البلدية 1، بحيث اعتمدنا على الخصائص المورفولوجية للبيوض لتعريفها. بينت النتائج المتحصل عليها أن نسبة الإصابة عالية جدا في فضلات القولون بنسبة 76.31%. مع ظهور درجة عدوى مهمة جدا(العدوى الكثيفة 31.57 % ،العدوى المتوسطة 44.73%)، على الرغم من أن عامل الجنس ليس له أي دور في حدوث الإصابة.

هذه الدراسة بينت تردد الكريبتوسبورديوز عند صنف الأرانب الذي اخذ من نتائج التقصي المبرمجة للطفيلي كلما أجرينا الفحص المعتاد.

كلمات مفتاحية:

الكريبتوسبوردييوم، فصيلة الأرانب، الانتشار، درجة العدوى، مجهر ضوئي.

Abstract:

A preliminary inquiry has been initiated in the experimental firm of the Technical Institute of Livestock Breeding of Baba Ali in order to provide some data on *Cryptosporidium* infection in the rabbit species in ALGERIA.

Colon smears, taken from weaned rabbit intended for fattening, of synthetic breed, have been analyzed.

The research for *cryptosporidium* oocysts has been carried out according to the Ziehl-Neelsen COLORING Technique, modified by Henriksen and Pohlenz. Smears were the subject of microscopic observation, being based upon the assessment of morphometric characters.

Reading is conducted at optical microscope (Gx100).

The obtained results reveal an ultra-high prevalence in colon smears (76, 31%) associated with an important rate of infestation (31, 57% massive and 44, 73% average). it seems that the sex factor does not play any role in the disease prevalence.

The present study shows the frequency of cryptosporidiosis in the rabbit breed, this implies a parasite during the routine exams and check.

Sommaire

Introduction :	1
❖ Chapitre 1 : L'état actuel des connaissances sur La Cryptosporidiose du lapin	
I. Historique :	3
II. Taxonomie :	3
III. Cycle évolutif :	4
IV. Epidémiologie :	7
1. Epidémiologie descriptive :	7
1.1. Source de parasite	7
1.2. Réceptivité et sensibilité :	7
1.3. Résistance du parasite	8
V. Pathologie :	8
1. Particularité physiologique du tube digestif du lapin :	9
2. Symptômes et lésions :	10
3. Pouvoir pathogène et immunogène :	11
VI. Diagnostic :	11
1. Eléments épidémiologiques et cliniques :	11
2. Coproscopie :	12
2.1. Flottation et coloration :	12
2.2. Autres méthodes :	13
VII. Méthode de lutte :	14
1. Traitement spécifique :	14
2. Prophylaxie sanitaire et médicale en élevage :	15
❖ Chapitre 2 : Recherche de la prévalence de la cryptosporidiose chez le lapin	
I. Problématique et objectifs :	16
II. Matériel et méthodes :	17
1. Matériel :	17
1.1. Lieu et période d'expérimentation :	17
1.2. Echantillonnage :	17
1.3. Matériel de laboratoire :	19
2. Méthodes :	19
2.1. Protocole de prélèvement	19
2.2. Technique utilisée pour la mise en évidence des cryptosporidies à partir de raclages de côlon :	21
3. Principe et mode opératoire de la technique de coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz :	21
4. Examen microscopique et interprétation :	23
III. Résultats :	26
1. Prévalence de <i>Cryptosporidium</i> en fonction du sexe :	26
IV. Discussion :	27

Liste des figures

Figure 01: Montre le cycle évolutif de <i>Cryptosporidium Spp.</i> Dans l'intestin grêle avec les étapes intracellulaires et extracellulaires [25, 26].	4
Figure 02 : Représentation schématique du cycle de développement biologique de <i>Cryptosporidium spp</i> [32].	6
Figure 03: Schéma général de fonctionnement de la digestion chez le lapin,[42].	9
Figure 04: Cryptosporidiose intestinale à <i>Cryptosporidium parvum</i> faisant saillie dans la lumière intestinale et semblants s'accrocher à l'apex des entérocytes [6].	10
Figure 05: les cryptosporidies après coloration par la méthode de Ziehl-Neelsen modifiée (Unité de parasitologie, ENVA, France).	13
Figure 06: cage préparé hébergeant les lapereaux à prélever « photo personnelle ».	18
Figure 07: diagramme du protocole de prélèvement et de la recherche des oocystes <i>Cryptosporidium</i> .	20
Figure 08: le nombre des prélèvements entre les deux sexes.	21
Figure 09: Mode opératoire de la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz (photos personnelles).	23
Figure 10 : Oocystes de <i>Cryptosporidium</i> en microscope optique Gx100 (photo personnelle).	24
Figure 11 : prévalence globale de la cryptosporidiose.	26

Liste des Tableaux

Tableau 01: Répartition de l'effectif à prélever.	18
Tableau 02: prévalence globale de la cryptosporidiose.	26
Tableau 02: prévalence globale de la cryptosporidiose.	26

Introduction

Introduction

La cryptosporidiose est une parasitose cosmopolite. Considérée comme une zoonose rare car ne concernant que des personnes exposées dans un contexte professionnel [1] ; causée par les nombreuses espèces qui appartiennent au genre *Cryptosporidium*. Le plus souvent asymptomatique mais qui peut se manifester cliniquement par des troubles digestifs, sur les animaux immunodéprimés en présence d'affections intercurrentes [2].

L'agent causal, le genre *Cryptosporidium* est un protozoaire intracellulaire de la famille des coccidies [3]. Les oocystes, hébergeant les sporozoïtes infectants, éliminés avec les selles des hôtes infectés, contaminent l'environnement. Etant immédiatement infectieux après leur excrétion et résistantes aux désinfectants usuels, ils sont fréquemment véhiculés par l'eau aux ils gardent leur pouvoir infectieux pendant longtemps [4, 5].

Grâce à de nombreuses recherches en santé animale et humaine, plusieurs espèces ont pu être isolées d'un grand nombre de vertébrés, y compris l'homme, [3] chez les quels, l'intérêt marque pour ce parasite et directement en relation avec la survenue d'épidémies à partir des années 80 ; nous citons celles de Milwaukee dans USA en 1993, Sète et de Dracy-le-Fort dans la France 2001,1998; [6].

Chez le lapin, l'espèce mise en cause et principalement *Cryptosporidium* par [3], qui représente la menace zoonotique la plus dangereuse [7]. En juillet 2008 au Royaume Uni, le génotype du lapin, a été identifié comme l'agent étiologique d'une épidémie de cryptosporidiose humaine. L'enquête menée à révéler qu'un lapin de garenne c'est étaient introduit dans d'un réservoir d'eaux potables qu'il avait contaminé. Cet épisode souligne que le lapin de garenne peut être porteur des parasite, et que le risque de zoonoses, notamment liée à l'eau, ne doit pas être écarté et négliger [8].

En Algérie, la majorité des études menées sur la cryptosporidioses concerne essentiellement les espèces bovine [2, 9, 10] et aviaire [11-13]; et plus récemment, l'espèces équines[14]. Aucune étude n'a été, à notre connaissance, réalisées chez les lagomorphes; ces pour cette raison nous avons entrepris cette enquête préliminaire.

Elle pour objet la recherche des oocystes de *cryptosporidium* dans des échantillons de matières fécales de lapins domestique sevrée de race synthétique appartenant à l'espèce *Oryctolagus Cuniculus Domesticus*, et ce, en utilisant la technique de coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz en 1981.

Les objectifs de notre étude sont :

- ✓ La détermination de la prévalence de la cryptosporidiose chez le lapin synthétique domestique à partir de prélèvement de groupe et frottis de côlon.
- ✓ l'évaluation du rôle des facteurs sexe et âge sur la présence des cryptosporidies.

Chapitre 1 :
L'état actuel des
connaissances sur la
cryptosporidiose du lapin

I. Historique

Chez des souris n'extériorisant aucun symptôme de maladie CLARCK [15] , observe des petites spores sur l'épithélium gastrique, spores que 12 ans plus tard [5] , Décritra comme *C.muris*. Puis en 1910-1912, il décrit *C.parvum* dans l'intestin de ce même animal.

Cryptosporidium fut longtemps considéré comme spécifique d'hôte et non pathogène. Seuls, SLAVIN [16] décrit *C.meleagridis* comme responsable de diarrhée dans un élevage de dindons, et [17] attribuent la diarrhée d'une génisse de 8 mois, aux cryptosporidies. Ces cryptosporidies sont souvent associées a d'autres agents entéropathogènes comme : rota et corona virus, e. Coli k 99, salmonelles... Lors des diarrhées néonatales des jeunes ruminants et il fallut attendre les années 80 pour que leur pouvoir pathogène propre soit reconnu.

Leur présence fut signalée chez l'homme en 1976 : 2 cas, l'un décrit par [18] chez un patient immunodéprimé, [19] chez un enfant immunocompétent, vivant en zone rurale. Mais ce n'est qu'après 1981, avec l'explosion du sida, que *Cryptosporidium* fut reconnu comme agent responsable de diarrhée chez l'homme [15].

II. Taxonomie

Le genre *Cryptosporidium* est un parasite unicellulaire : donc appartenant au règne des Protistes, embranchement des *Apicomplexa*, classe des *Coccidea*, ordre des *Eimarida*, famille des *Cryptosporidae* [20]. À environ 20 espèces de *Cryptosporidium* ont été décrites mais seulement 10 sont généralement reconnues.

La principale est *C. parvum*, avec à ce jour huit génotypes identifiés chez de nombreux mammifères domestiques et sauvages, dont deux sont infectieux pour l'homme avec les génotypes I et II,[21] . Des cas de contamination par les autres espèces de *Cryptosporidium* ont été également rapportés. Bien que l'on a proposé de nombreux noms d'espèces en fonction de l'identité de l'hôte, la plupart des isolats de *Cryptosporidium* de mammifères, y compris les isolats humains, sont similaires à *C. parvum* [22].

On reconnaît actuellement 10 espèces valides : [23] ;*C. parvum*, *C .muris*, *Cryptosporidium andersoni*, *C. félis* et *C. wairi*, qui infectent les mammifères *Cryptosporidium baileyi* et *C. meleagridis*, qui infectent les oiseaux ; *Cryptosporidium sepentis* et *C. saurophilum*, qui infectent les reptiles ; et *Cryptosporidium nazorum*, qui infecte les poissons[24].

III. Cycle évolutif

Le cycle de développement de *Cryptosporidium Spp.* Chez le lapin reste à ce jour inconnu. Les étapes connues du développement présentées dans ce paragraphe sont celles mises en évidence lors d'études in vitro (**Figure 01**).

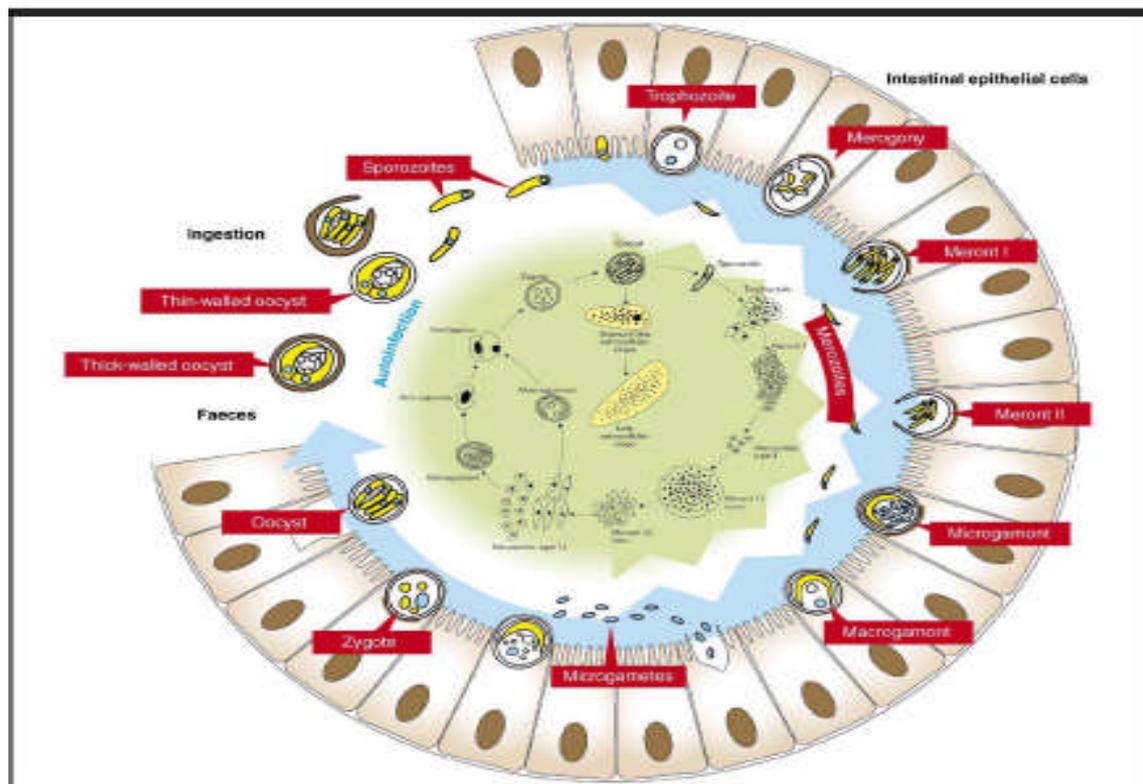


Figure 02: Montre le cycle évolutif de *Cryptosporidium Spp.* Dans l'intestin grêle avec les étapes intracellulaires et extracellulaires [25, 26]

Néanmoins, la partie extracellulaire décrite par **Hijjawi** [25] reste à l'heure actuelle controversée et est l'objet de polémiques au sein de la communauté de chercheurs en parasitologie.

En outre, seule la cryptosporidiose intestinale est abordée ici. Contrairement à l'homme chez qui des infections respiratoires, oculaires, pancréatiques ou hépatiques ont été décrites aucune infection extra-intestinale chez le lapin n'a été rapportée à l'heure actuelle [27]. L'hôte se contamine par voie oro-fécale : l'eau ou les aliments contaminés, léchage de zones souillées contenant des oocystes. Au sein du tractus digestif, les 4 sporozoïtes se libèrent de l'oocyste sous l'action de la chaleur et de la bile.

Les étapes suivantes sont toutes intracellulaires dans une vacuole parasitophore au sein de la bordure en brosse et séparées du cytoplasme par un organe qui joue un rôle dans la nutrition du parasite. Les sporozoïtes infectent les cellules intestinales, se transforment en trophozoïtes puis, par multiplication asexuée en schizontes de type I. Ces schizontes éclatent et libèrent alors 8 mérozoïtes de type I qui colonisent à leur tour d'autres cellules intestinales et

se transforment en schizontes de type II. En éclatant, ils libèrent à leur tour 4 mérozoïtes de type II qui peut être l'objet d'une reproduction asexuée. Ces mérozoïtes de type II pénètrent dans les cellules intestinales et sont à l'origine des formes de la reproduction sexuée : un microgamétocyte donnant des microgamètes non flagellés et un macrogamétocyte à l'origine d'un macrogamète.

La fécondation du macrogamète par un microgamète forme les oocystes, dont la particularité est leur sporulation endogène. Suivant l'épaisseur de la paroi, deux types d'oocystes sont distingués. Les oocystes à paroi fine sont auto-infectants tandis que les oocystes à paroi épaisse sont excrétés dans les fèces. Ces derniers sont donc directement infectants.

La période entre la contamination et l'excrétion des formes infectantes, c'est-à-dire des oocystes, appelée période pré-patente dure entre 2 et 14 jours [28], mais elle n'a pas encore été étudiée chez le chien. La période correspondant à la durée de l'excrétion des oocystes, appelée période patente. [29, 30, 31] **(Figure 02)**.

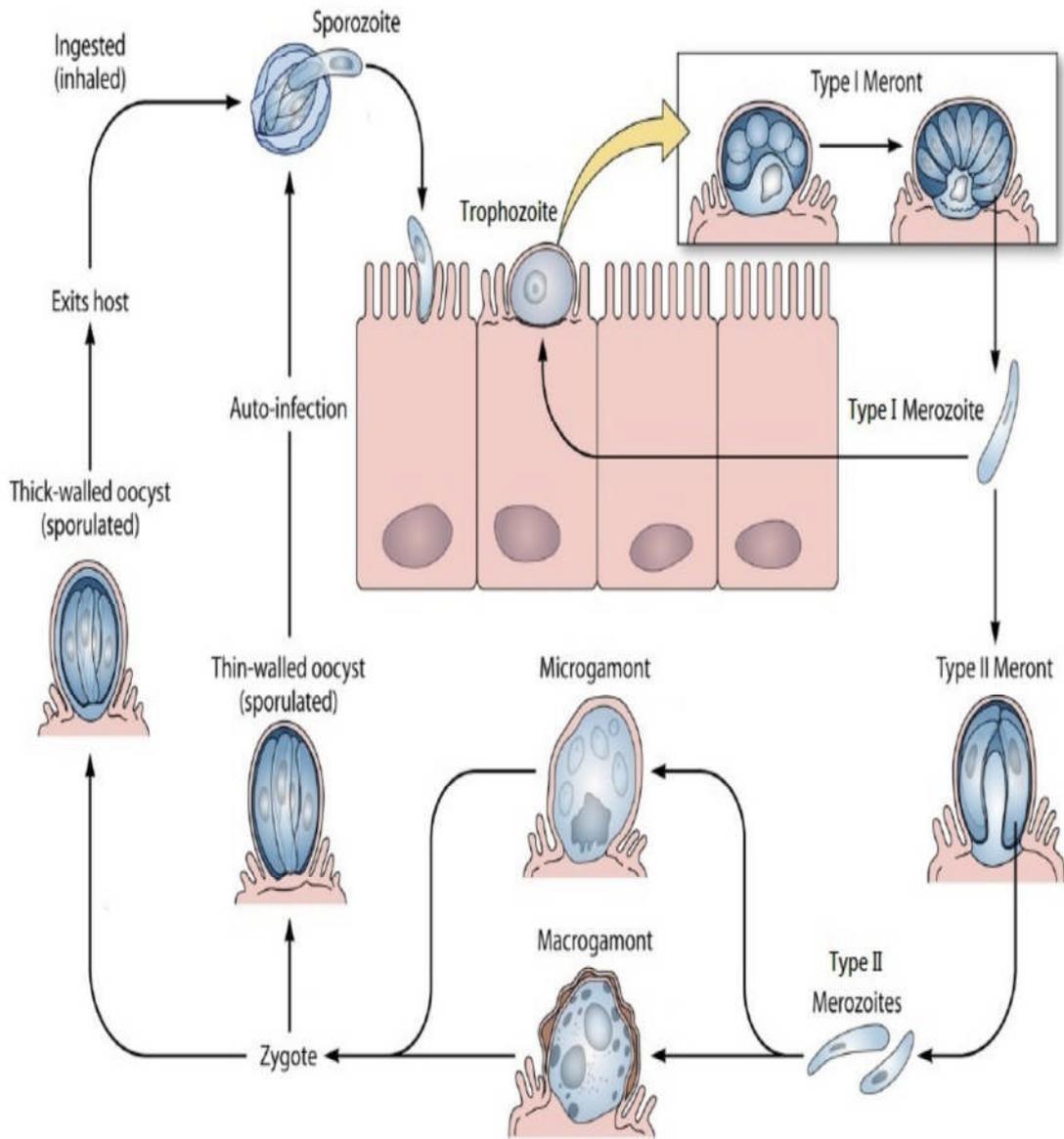


Figure 02 : Représentation schématique du cycle de développement biologique de *Cryptosporidium* spp [32].

IV. Epidémiologie

1. Epidémiologie descriptive

Cryptosporidium spp est un protozoaire parasite du tube digestif de nombreux vertébrés y compris l'homme. La maladie qui résulte de l'infection appelée cryptosporidiose exprime par une atteinte digestive aussi bien chez l'homme que chez l'animal. Cette maladie est ubiquitaire et revêt une importance en santé publique et animal ; ces deux aspects étant liés par l'existence d'espèces zoonotiques [3].

1.1. Source de parasite

La forme infestante naturelle de *Cryptosporidium* est l'oocyste rejeté à l'extérieur de l'organisme infesté [33], ces oocystes sont en effet directement contaminants et permettent de reproduire la maladie chez les animaux exposés [6]

1.2. Réceptivité et sensibilité

Les facteurs favorisant la réceptivité ou la sensibilité aux cryptosporidies sont liés à l'hôte, au parasite et aux agents extérieurs ; ils englobent l'espèce, l'âge et l'état immunitaire des lapins, le climat, les conditions et le mode d'élevage ; l'hygiène ; l'alimentation ; les affections intercurrents, les thérapeutiques utilisées, ainsi que l'espèce de cryptosporidie en cause, son pouvoir infectant et la dose ingérée [12].

a. L'âge :

Classiquement, on décrit la cryptosporidiose comme une maladie des jeunes animaux ; cependant, la maladie a été décrite chez des animaux âgés, dont les examens paracliniques permettaient de conclure à une immunodépression [34].

b. L'état immunitaire :

Les animaux immunodéprimés et atteints d'une affection intercurrente avec : campylobactériose, salmonellose et giardiose, présentent des symptômes exacerbés. Le statut immunitaire non mature des jeunes semble entrer en ligne de compte. Les animaux ayant reçu du colostrum seraient atteints moins sévèrement que les autres [35-37].

c. Les conditions d'élevage :

Les conditions d'élevage des animaux influent sur la circulation des cryptosporidies au sein de l'exploitation et favorisent donc la contamination. En effet, l'insuffisance voire l'absence

de désinfection des locaux et du vide sanitaire entre les lots successifs, sont à l'origine du maintien du parasite dans le troupeau [13].

1.3. Résistance du parasite

Les oocystes cryptosporidienne apparaissent très résistants dans le milieu extérieur de nombreux agents physiques et chimique [38].

a. Agents physiques

- ✓ Les oocystes résistant bien à une température de 4°C pendant 2 à 6 mois.
- ✓ Ils sont conservés dans du bichromate de potassium pendant 120 jours.
- ✓ L'inactivation du pouvoir infectant peut être obtenue par l'action de la chaleur à 65°C pendant 5 à 10 min ou du froid à -22°C pendant 10 jours ou plus.

b. Agents chimiques

Divers désinfectant couramment utilisés dans les laboratoires à concentrations et à durées variables ont été testés sur les cryptosporidies, sans résultats concluants. En plus l'exposition des oocystes de *C.parvum* dans l'ammoniac à 10% et l'eau oxygénée à 10% pendant 36 heures entraînent une détérioration de la morphologie de plus de 50% des oocystes traités.

Une réduction significative du nombre des parasites est atteinte parce que celui-ci exposé à l'ammoniac de 5% et 10%, et à la formolaldéhyde de même dose que le produit précédant à des durées dépassant 36 heures [39]. Il n'existe pas un désinfectant qui peut détruire les oocystes dans l'environnement [40].

V. Pathologie

1. Particularité physiologique du tube digestif du lapin

Le lapin est un herbivore, cependant sa physiologie digestive diffère fortement de celle d'autres herbivores plus connus comme les ruminants ou le cheval.

Il se présente une digestion particulière avec un comportement de Cæcotrophie. La première digestion produit des crottes molles, riches en protéines et vitamines synthétisées par la flore cæcale. Ces caecotrophes sont ingérées par le lapin et leur digestion permet l'assimilation des nutriments d'origine bactérienne [41].

Cette digestion est identique à celle des autres aliments ingérés. **(Figure 03)** ; compte tenue des fractions éventuellement recyclées de 1 à 4 fois, le transit digestif du lapin dure de 15 à 30 h [3].

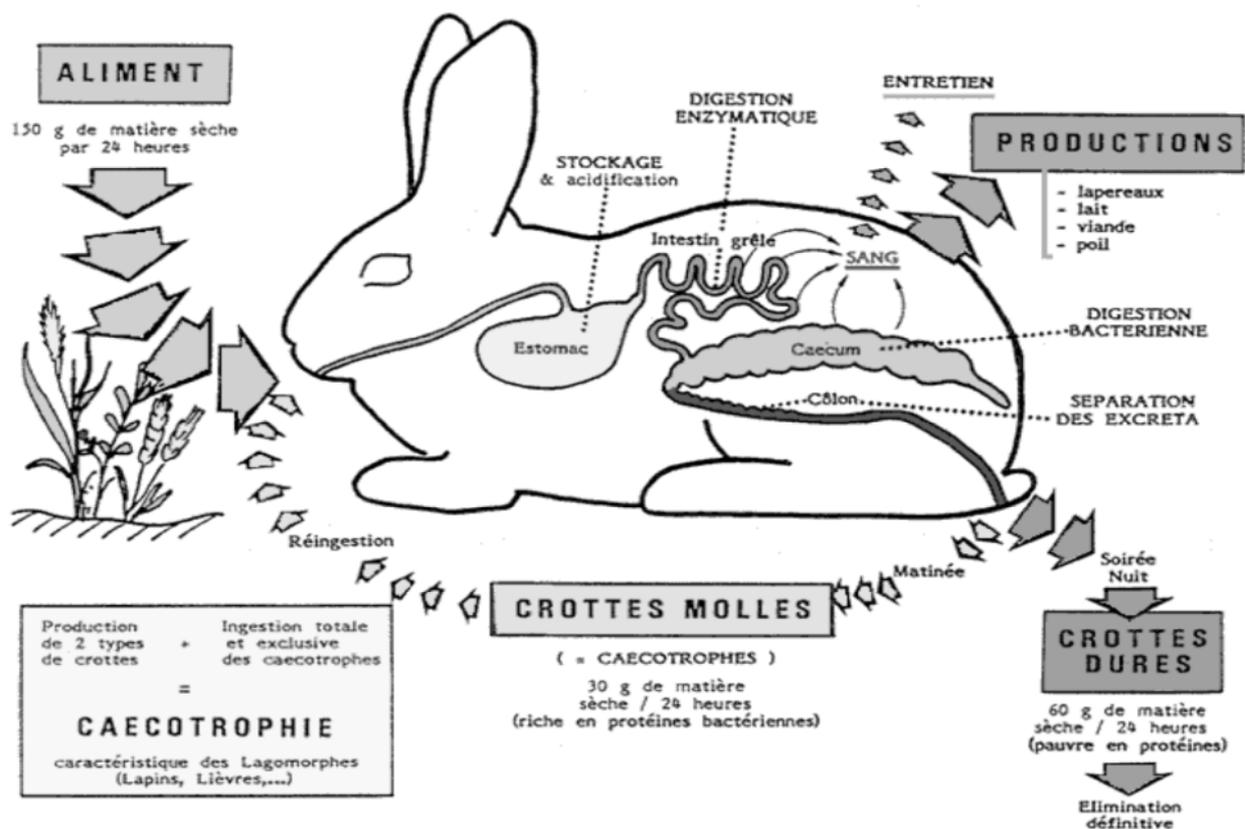


Figure 03: Schéma général de fonctionnement de la digestion chez le lapin [42].

2. Symptômes et lésions :

Le plus souvent, le cryptosporidium parvum ne manifestent aucun trouble à l'infection. [43, 44] mais lorsqu'elle est exprimée cliniquement par l'animal, les symptômes sont frustes et non pathognomoniques [45].

Il existe plusieurs formes de la maladie ; dans la forme suraigüe qui correspond à la présence des lésions nodulaires à l'autopsie avec des anorexies, constipation, diarrhée. Dans la forme subaigüe : les mêmes symptômes précédents, mais il existe une phase d'amaigrissement progressif. Il existe aussi une forme chronique à guérison spontanée. La mortalité ne touche pas l'ensemble des animaux [45].

Cryptosporidium parvum, seul ou en association avec des agents bactériens ou viraux, engendre des diarrhée très liquides et un retard de croissance surtout chez les nouveau-nés [46].

Chez les jeunes animaux, on peut avoir une inflammation modérée de *lamina propria*, une atrophie des villosités et une hyperplasie des cryptes [47] ;(Figure 04) :

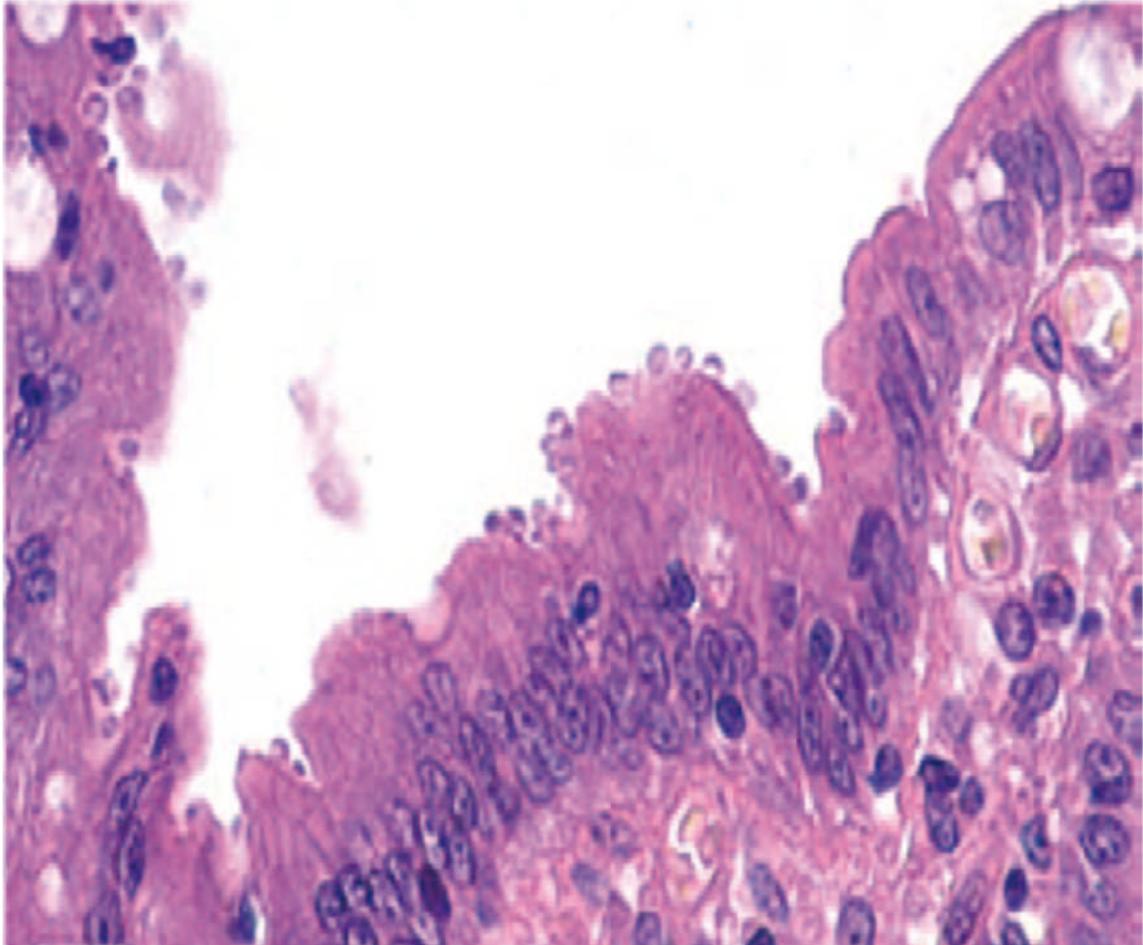


Figure 04: Cryptosporidiose intestinale à *Cryptosporidium parvum* faisant saillie dans la lumière intestinale et semblants s'accrocher à l'apex des entérocytes [6]

3. Pouvoir pathogène et immunogène

Tzipori et ward [48] ont décrit le pouvoir pathogène de *C.parvum*. l'infection provoque une destruction de la bordure en brosse, surtout au sommet des villosités intestinales, une hyperplasie des cryptes glandulaires [49].

Au niveau intestinal, les cryptosporidies détruisent au lieu de leur pénétration les microvillosités cellulaires, et provoquent une atrophie des villosités intestinales, entraînant une diminution de la surface d'absorption, et par la suite une malabsorption et une hypersécrétion. Chez les animaux infectés, il existe une diminution de l'activité enzymatique, particulièrement dans l'iléon [50].

La dose infectante minimale chez le lapin est inconnue. Chez l'homme, des infections expérimentales ont montré qu'entre 1 et 10 oocystes de *C.parvum* peuvent engendrer une cryptosporidiose [51]. aussi des infections expérimentales avec *C.parvum* chez des singes, des agneaux et des souris nouveau-nées ont conduit à la même dose infectante [52].

En conclusion, les symptômes de la cryptosporidiose chez le lapin sont inexistants ou frustrants quand ils sont présents. Les lésions occasionnées par cette infection entraînent des diarrhées chroniques ou intermittentes ainsi qu'un amaigrissement dont l'étiologie nécessite le recours aux examens complémentaires [53].

VI. Diagnostic

1. Éléments épidémiologiques et cliniques

Peu d'éléments épidémiologiques permettent de suspecter une cryptosporidiose. Les symptômes sont frustrants. Lors de diarrhée chronique associée à un abattement, et un amaigrissement, un examen coprologique peut être effectué pour rechercher d'éventuelles cryptosporidies.

2. Coproscopie

2.1. Flottation et coloration

De nombreuses techniques de flottation existent et celle décrite par **WEBER et BRYAN** [53]. Est la plus utilisée en laboratoire pour la recherche d'oocystes dans les selles des humains. Après dilution d'un échantillon de selles dans du formol 10%, le filtrat de cette préparation est mélangé à de l'acétate d'éthyle. Cette solution est alors centrifugée. Le sédiment recueilli est dilué dans de l'eau distillée, puis ajouté au dessus d'une solution saturée en Na Cl.

L'ensemble subit une centrifugation. La partie de la solution située à l'interface avec le Na Cl est récupérée et mélangée à de l'eau distillée pour une nouvelle centrifugation. Le sédiment recueilli est alors étalé sur une lame puis coloré par immunofluorescence pour une observation des cryptosporidies.

Cette technique assez lourde est essentiellement réalisée dans des laboratoires de référence. La lame doit être lue à l'objectif Gx40, et observée avec attention. Les oocystes de cryptosporidies apparaissent verts en microscopie UV. Cette technique est assez sensible si les cryptosporidies sont en nombre important, au minimum 5000/g de fèces [53].

Néanmoins la technique de référence est la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen [54] Sur de simples frottis fécaux, obtenus directement ou après une technique de flottation. Les cryptosporidies apparaissent alors rose foncé ou rouge, contrastant avec le reste des matières fécales colorées en bleu-vert (**Figure 05**). La lame doit être observée à l'objectif

40 puis 100, avec une goutte d'huile à immersion pendant une quinzaine de minutes avant d'émettre une conclusion [55].

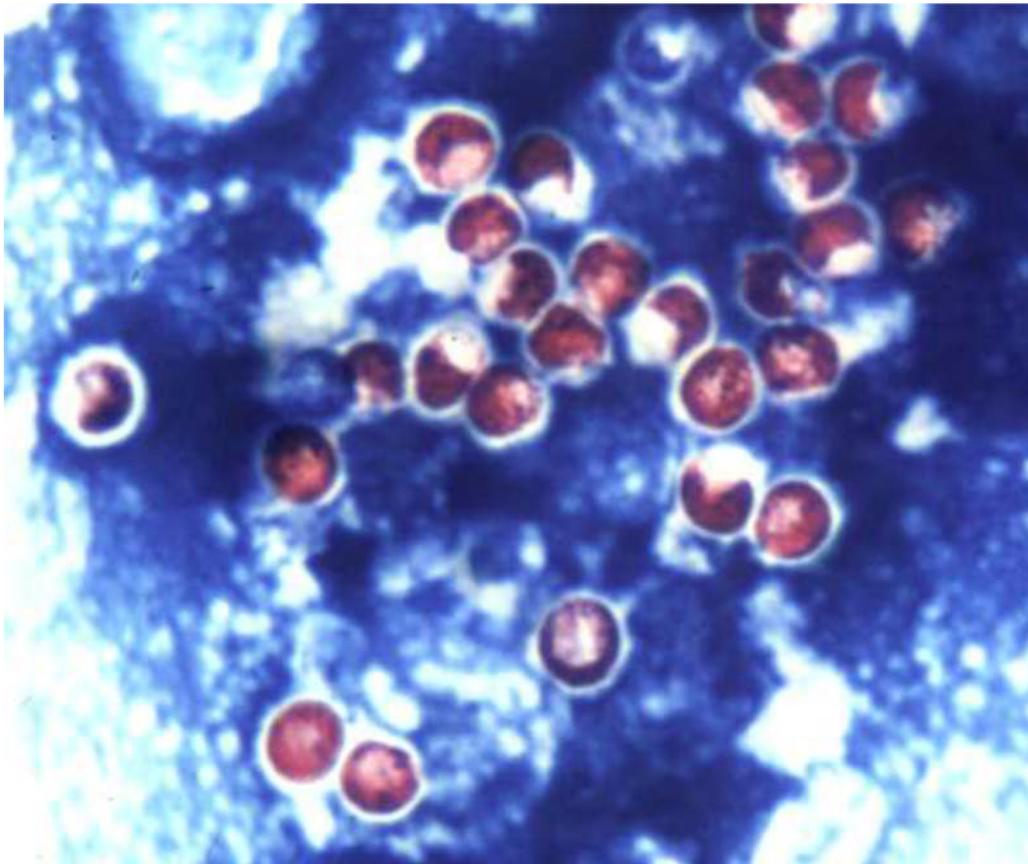


Figure 05: les cryptosporidies après coloration par la méthode de Ziehl-Neelsen modifiée (Unité de parasitologie, ENVA, France).

2.2. Autres méthodes

Différents tests ont été commercialisés à l'attention des vétérinaires afin de diagnostiquer une cryptosporidiose. Ils reposent sur des méthodes d'immunofluorescence directe ou de méthode ELISA.

Ces tests développés pour détecter *Cryptosporidium parvum* dans des échantillons de selles, permettent aussi de mettre en évidence les autres espèces de cryptosporidies et notamment *C. canis* ou *C. felis* [56-58]. Il est cependant nécessaire en cas de positivité du test ELISA : prospect®*Cryptosporidium* Microplate Assay ; d'effectuer un examen coprologique conventionnel Carles tests ELISA créent de nombreux faux-positifs. En effet, ce test crée de nombreux faux positifs pour des échantillons de selles, dépourvus de giardia ou cryptosporidies, mais contenant des oocystes de coccidies selon *Isospora burrowsi/ohioensis* [59].

Néanmoins, l'avènement de techniques moléculaires telles que la PCR a permis d'obtenir une meilleure sensibilité des tests diagnostiques en comparaison avec les test ELISA ou IFA [60], et ces nouveaux tests PCR-RFLP permettent de faire la distinction entre différentes espèces de cryptosporidium : *C. felis*, *C. canis*, *C. ominis* ou *C. parvum* [61].

VII. Méthode de lutte

Aucune molécule n'a pour le moment été testée pour le lapin. La sulfaquinoxaline est efficace chez la souris et peut être employée. De même que la spiramycine et l'érythromycine qui ont été testées chez l'homme [46].

1. Traitement spécifique

Plus d'une centaine de molécules ont été essayées sur des modèles animaux et peu ont montré une efficacité clinique probante [62].

La paromomycine de 165mg/kg 5j ; [63] et le nitazoxanide de 25mg/kg 28j ; [64]. Ont montré une certaine efficacité dans le traitement de la cryptosporidiose chez des chats, faisant disparaître l'excrétion d'oocystes et la diarrhée associée. Ces traitements ne sont cependant pas dépourvus d'effets secondaires et peuvent être à l'origine d'insuffisance rénale aiguë [65], si l'antibiotique franchit la barrière digestive, à la faveur d'ulcères par exemple.

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

La clindamycine utilisée à la posologie de 15mg/kg po toutes les 8 heures pendant 6 jours a été utilisée chez un pointer de 5 ans, sans parvenir à endiguer l'excrétion d'oocystes [66, 67]. La paromomycine a été utilisée chez un petit nombre de chiens atteints de cryptosporidiose. Son administration enrayer l'excrétion d'oocystes en 5 jours [63].

Finalement, seule la paromomycine, disponible en France pour le traitement des cryptosporidioses humaines, semble avoir un intérêt dans le traitement de la cryptosporidiose chez le lapin.

2. Prophylaxie sanitaire et médicale en élevage

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

- ✓ Retrait immédiat des déjections,
- ✓ Isolement des animaux malades,
- ✓ Traitement et utilisation d'un lazaret pour les animaux malades et en particulier ceux présentant un syndrome diarrhéique,
- ✓ Nettoyage et désinfection à l'OO-CIDE® des équipements et locaux contaminés,
- ✓ Elimination correcte des cadavres des animaux.

Chapitre 2 :
**Recherche de la prévalence de
la cryptosporidiose**

I. Problématique et objectifs

Décrits en 1907, *Cryptosporidium spp.* Étaient considérés comme des commensaux jusqu'à ce que leur association avec la diarrhée chez de jeunes dindes *C. Meleagridis* dans les années 1950, et avec de grands foyers de diarrhée chez les bovins *C. Parvum* dans les années 1970, soit reconnue [68].

Par ailleurs, l'évolution des techniques d'identification et l'acquisition de meilleures connaissances biologiques et épidémiologiques sur le parasite, ont permis d'établir l'existence d'une transmission interespèces, mais aussi d'une contamination d'homme à homme et d'une contamination par l'eau. Cette dernière voie de transmission, révéler en 1985 et qui pose un problème pour la santé, ni aujourd'hui plus équivoque; l'épisode épidémique de juillet 2008 au Royaume Uni incriminant le lapin, espèce mammifère objets de notre travail, l'illustre parfaitement.

En l'absence des données sur la cryptosporidiose chez les lagomorphes en Algérie et compte tenu des espèces de cryptosporidiose à caractère zoonotique qu'hébergeraient ces animaux, nous avons entrepris cette étude dans les quelles nous rechercherons les oocystes de ce parasite dans des prélèvements du côlon de lapins de race synthétique, où en utilisant une méthode conventionnelle de coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz en 1981. Il en découlera, l'estimation de la prévalence de l'infection cryptosporidienne dans l'élevage cunicole, objet de notre expérience, et du rôle des facteurs sexe sur l'apparition et l'évolution de la maladie. Après mise en évidence du parasite, nous utiliserons la méthode de référence basée sur la morphométrie des oocystes.

Matériel et méthodes :

Matériel

1. Lieu et période d'expérimentation :

Notre étude a été réalisée, durant l'année 2016, à l'Institut Technique des Elevages de Baba Ali situé dans la wilaya d'Alger. Il s'agit d'un établissement à caractère administratif dépendant du Ministère de l'agriculture et du Développement Rural.

À vocation à la fois technique et scientifique, il a pour mission :

- ✓ La mise en œuvre des programmes nationaux d'appui au développement agricole et à la profession.
- ✓ La production d'un matériel biologique animal et végétal performant.
- ✓ L'identification, l'élaboration et la proposition de programmes technique d'appui au développement.
- ✓ La valorisation du produit de l'élevage.
- ✓ La mise en place des schémas de sélection et de croisement pour l'amélioration génétique des espèces animales existante en Algérie.
- ✓ La mise en place d'un modèle de contrôle des performances zootechniques.
- ✓ Le développement des systèmes alimentaires et fourragers d'après la source : de l'Itelv.

2. Echantillonnage « Tableau 01 »

Notre étude a touché un nombre total de trente-huit « 38 » sujets (male, femelle) sevrés destinés à l'engraissement, originaires de neuve « 09 » lapines mères de race amélioré appartenant à l'espèce *Oryctolagus Cuniculus Domesticus*. Cet élevage est logé dans un bâtiment conventionnel.

Les lapines ont mis bas la dernière semaine du mois –juillet 2016. Après sevrage, et pour chaque portée entre 3 et 5 lapereaux pris aléatoirement, ont été placés dans 09 cages différentes préalablement préparés.

La préparation des cages (**figure 06**) consiste à :

Les identifier en leur attribuant chacune un numéro, de 01 à 09 correspondant au nombre de portée, et en insérant une fiche de suivie sur les quelles seront mentionnés, notamment, l'origine et le sexe de chaque lapereaux.

Tableau 01:Répartition de l'effectif à prélever.

N° de cage (portée)	Effectif de la portée au sevrage	Effectif prélevé	M	F
01	9	5	2	3
02	5	4	3	1
03	9	5	2	3
04	4	3	3	0
05	10	5	5	0
06	10	3	1	2
07	8	4	1	3
08	3	4	3	1
09	6	5	2	3
Total	64	38	22	16

M : male ; F : femelle.



Figure 06: cage préparé hébergeant les lapereaux à prélever « photo personnelle ».

3. Matériel de laboratoire

Pour la collecte des prélèvements :

- ✓ Pots en plastique.
- ✓ Etiquettes pour l'identification.
- ✓ Ciseaux.
- ✓ Gants.

Pour la confection et la fixation des frottis fécaux, le matériel suivant est utilisé :

- ✓ Pipettes pasteur.
- ✓ Lames bien dégraissées.
- ✓ Lamelles.
- ✓ 01 réactif : le méthanol.

Le matériel utilisé pour la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz en 1981, est le suivant :

- ✓ Bacs à coloration.
- ✓ Pincés.
- ✓ Minuterie.
- ✓ 02 colorants préparés au laboratoire :
- ✓ La fuchsine phéniquée de Ziehl et la verte malachite à malachite à 5%.
- ✓ 01 réactif : l'acide sulfurique à 2%.

La lecture des lames nécessite un microscope optique.

Méthodes :

1. Protocole de prélèvement :

Au total, 38 prélèvements de raclages du colon ont fait l'objet de la recherche des oocystes de *Cryptosporidium*. Les prélèvements ont été effectués selon le protocole suivante : **(Figure 07)**

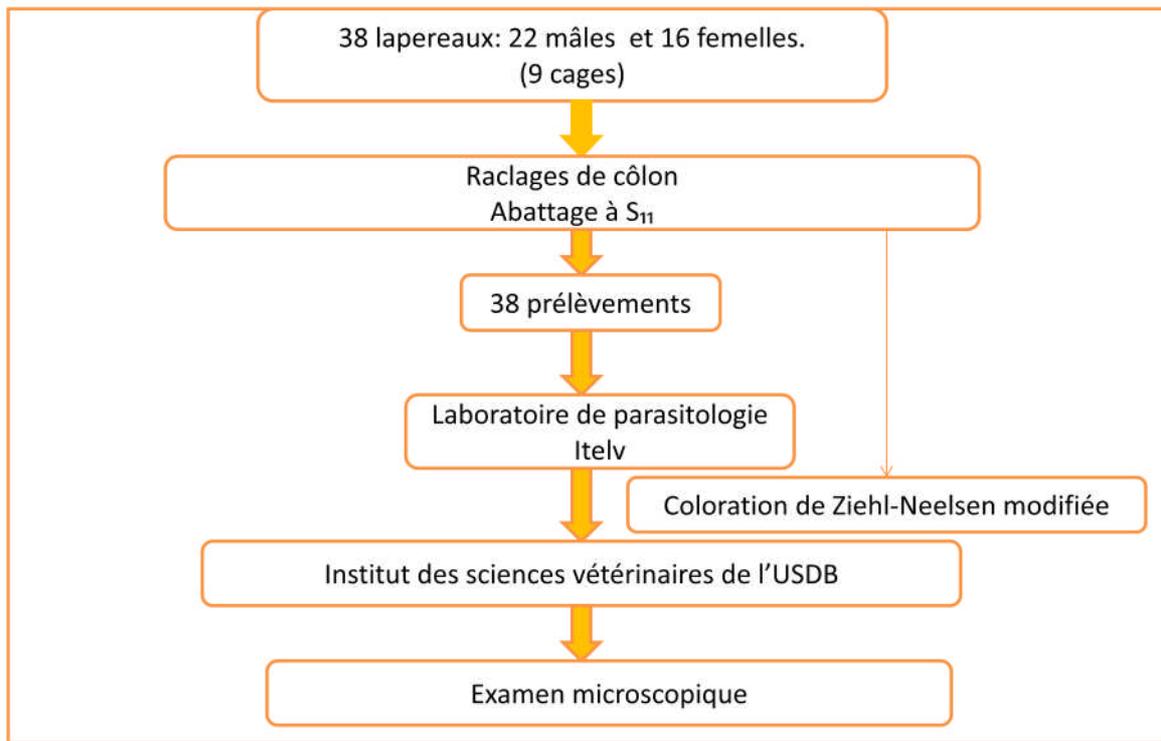


Figure 07: diagramme du protocole de prélèvement et de la recherche des oocystes *Cryptosporidium*.

- ✓ Sur les 38 lapins « 22 mâles et 16 femelles » sacrifiés aux 11 semaines d'âge « jours 77 »
(Figure 08) :

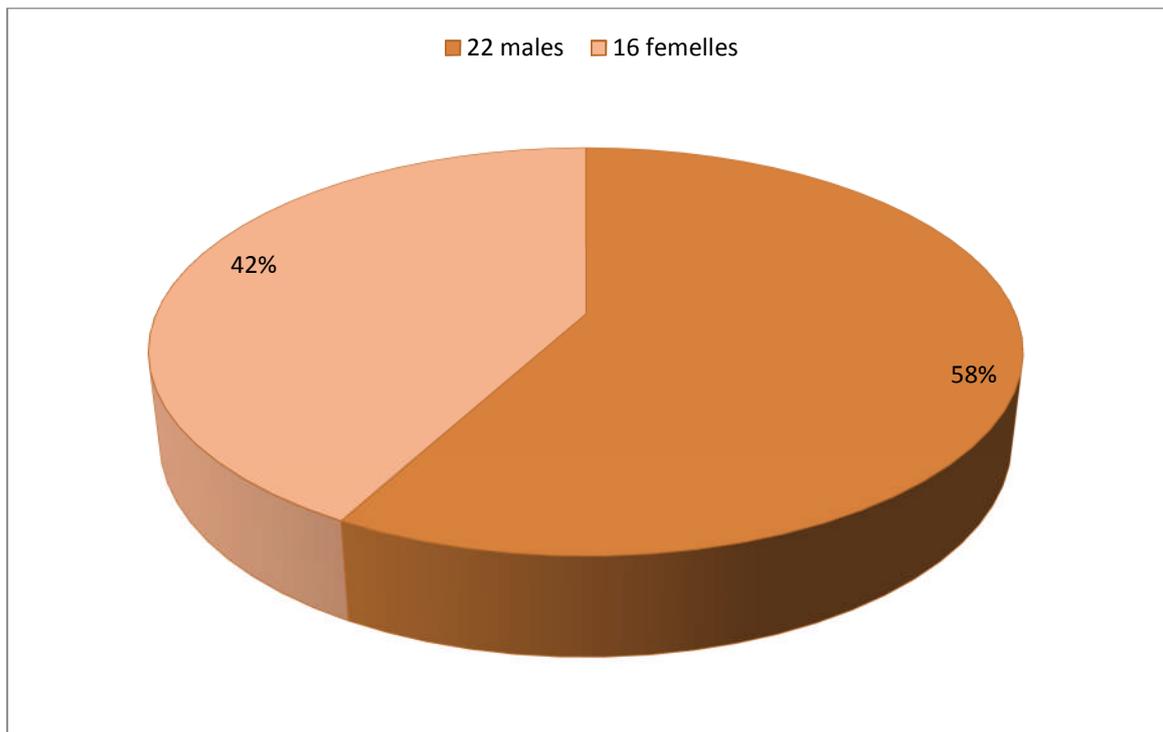


Figure 08: le nombre des prélèvements entre les deux sexes.

Les prélèvements de raclages ont été individuellement récupérés en ouvrant puis en raclant le côlon après sa dissociation du reste de l'appareil digestif.

2. Technique utilisée pour la mise en évidence des cryptosporidies à partir de raclages de côlon

Pour la recherche des oocystes dans les frottis réalisés à partir de raclages de côlon, nous avons utilisé la technique de coloration décrite ci-dessous.

3. Principe et mode opératoire de la technique de coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz

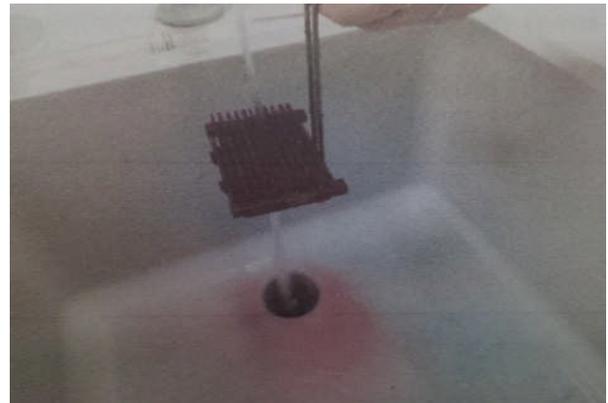
Il s'agit d'une méthode de référence, simple, rapide, peu onéreuse connue pour sa sensibilité et sa spécificité ; de plus, les lames peuvent être conservées.

Elle permet de caractériser l'acido-alcool-résistance des parasites ayant la capacité à retenir la fuchsine après traitements par un alcool ou un acide. Les parasites apparaissent en rouges malgré l'utilisation du bleu de méthylène [69]. Ces propriétés de coloration sont expliquées par la structure de la paroi cellulaire, notamment par sa richesse en acide mycolique qui retient la fuchsine ; la paroi forme une véritable enveloppe cireuse protectrice de part son abondance en acide gras et en lipide, donc la paroi des oocystes rend difficile la pénétration des agents décolorants [70].

Avant toute coloration la préparation d'un frottis est nécessaire. Ils sont directement étalés sur lame. Quel que soit l'origine du prélèvement, le frottis de raclages confectionné est laissé sécher à l'air durant une nuit avant de le fixer au méthanol pendant 5 minutes et de le remettre enfin à sécher à l'air. La lame est ainsi prête pour la coloration. Les différentes étapes de la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz en 1981 sont illustrées dans la figure 09.



1. Colorer le frottis dans la solution de la fushine de Ziehl pendant une heure.



2. Rincer à l'eau du robinet.



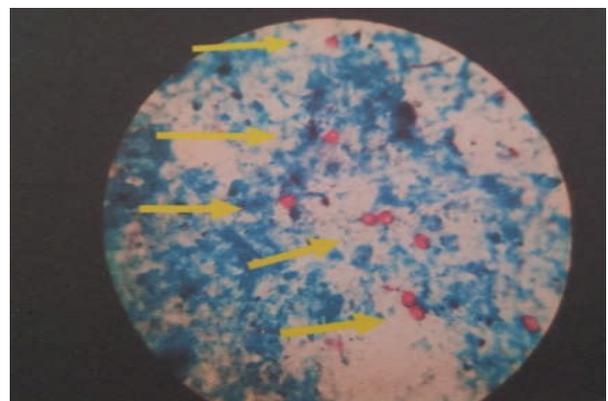
3. Différencier dans de l'acide sulfurique à 2% pendant 20 secondes.



4. Contre colorer avec du vert de malachite à 5% pendant 5 minutes.



5. Coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz.



6. Oocystes de *Cryptosporidium* spp observés au microscope optique

Gx100.

Figure 09: Mode opératoire de la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz (photos personnelles).

4. Examen microscopique et interprétation :

La recherche du parasite se fait au microscope photonique à l'objectif Gx100. Toute la surface de la lame est balayée en zigzagant progressivement, de gauche à droite et de haut en bas.

Les oocystes de *Cryptosporidium* apparaissent ronds à ovoïdes de 4-6 µm de diamètre, colorés en rouge vif; le corps résiduel apparaît plus foncé (**Figure 10**).

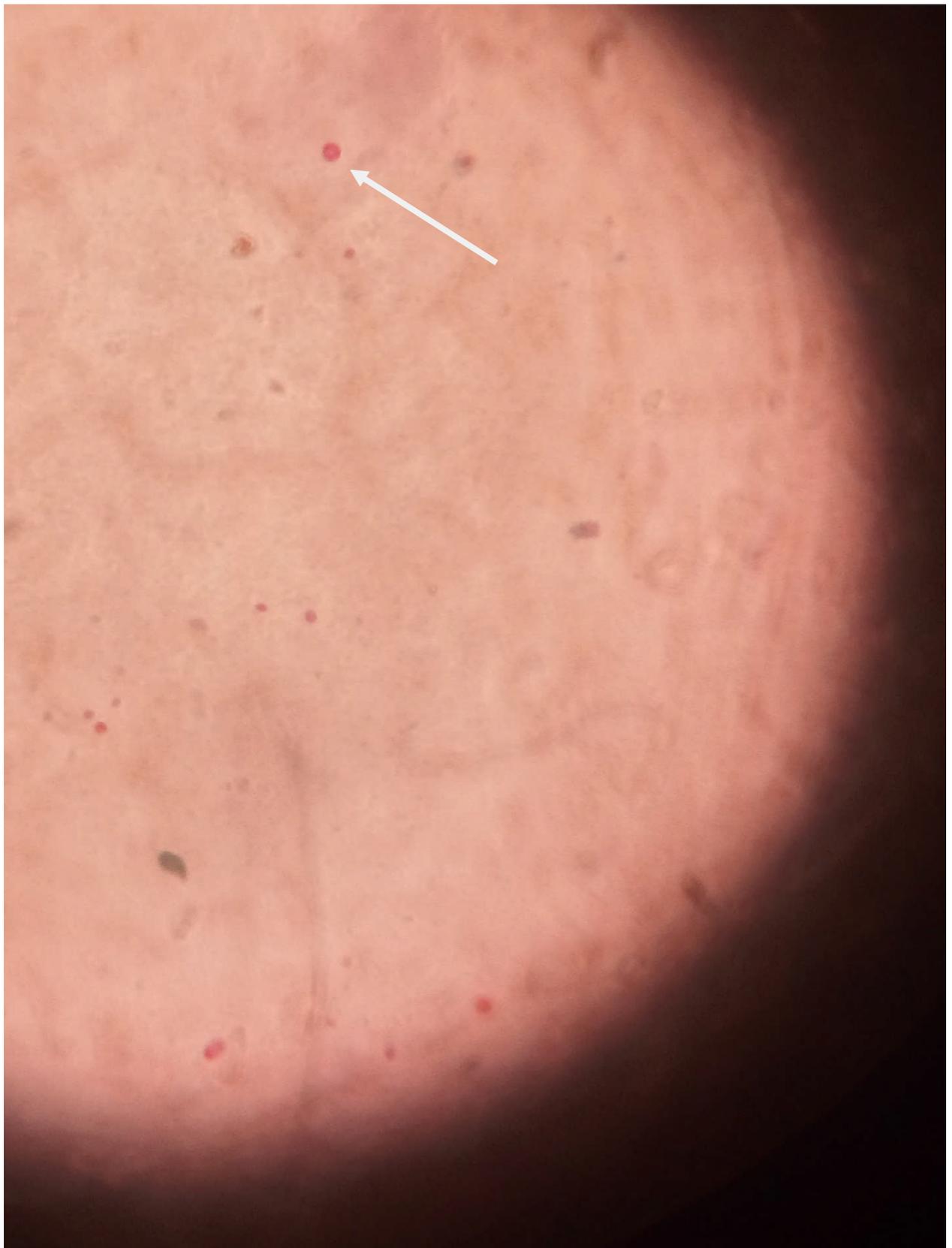


Figure 10 : Oocystes de *Cryptosporidium* en microscope optique Gx100 (photo personnelle).

La lame est considérée positive lorsqu'elle contient au moins un oocyste. Quant au calcul du degré d'infestation, il a été effectué selon la méthode semi-quantitative d'Henriksen et Krogh en 1985 modifiée [71] :

- Infestation faible (+1) : 1 à 4 oocystes par champ microscopique au Gx100.
- Infestation moyenne (+2) : 5 à 10 oocystes par champ microscopique au Gx100.
- Infestation massive (+3) : plus de 10 oocystes par champ microscopique au Gx100.

Résultat

Résultats :

Sur les 38 prélèvements individuels de contenus de côlon, 29 sont positifs, soit une prévalence de 76.32 % (**Tableau 02**).

Tableau 02: prévalence globale de la cryptosporidiose.

Type de prélèvement	N	N positifs	Prévalence (%)
Contenus de côlon	38	29	76.32

N : nombre de prélèvements.

1. Prévalence de cryptosporidium en fonction du sexe (Figure 11)

Sur les 22 sujets males prélevés, 19 sont positifs aux cryptosporidies, soit une prévalence de 76.32%. De même sur les 16 sujets femelle examinées, 10 sont positifs, représentant une prévalence de 77.78% (**Tableau 03**).

Tableau 03: prévalence de la cryptosporidiose selon le sexe des lapins.

Sexe	N	N positifs	Prévalence(%)
Male	22	19	86.4
Femelle	16	10	62.5

N : nombre de sujets = nombre de prélèvements après abattage.

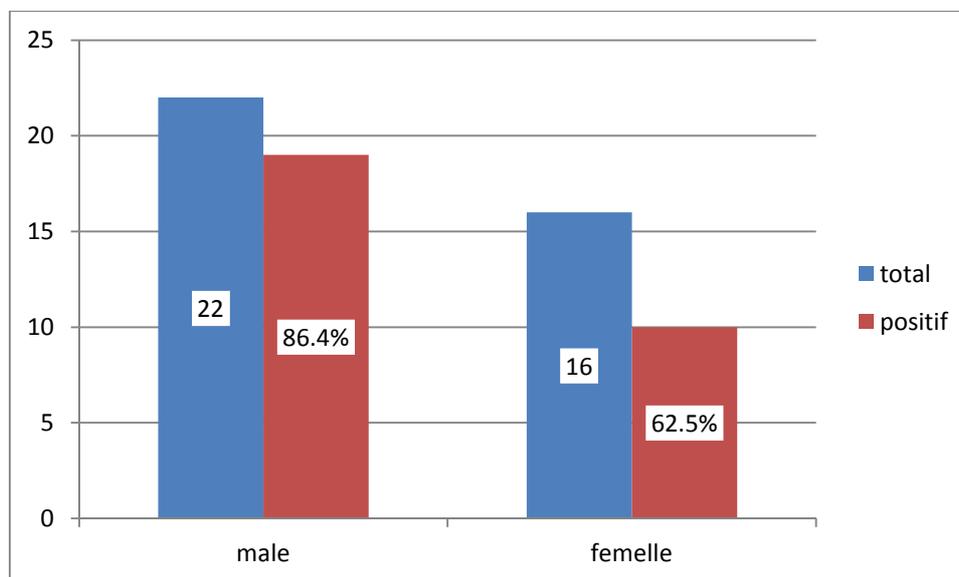


Figure 11 : prévalence globale de la cryptosporidiose.

Discussion

Discussion :

La présente étude fournit les premières données sur l'infection cryptosporidienne dans l'espèce cunicole en Algérie. Même à travers le monde, le nombre d'investigations dans ce domaine est limité à l'Europe, à l'Amérique du nord et à l'Australie [72] ; par conséquent, les informations demeurent parcellaires.

La bibliographie nationale s'est enrichie ces dernières années de quelques travaux de recherche sur la cryptosporidiose bovine [2, 10, 11, 73], aviaire [12, 13] et plus récemment équine [14]. Sur la base des résultats obtenus, tous les auteurs s'accordent à dire que la maladie, très fréquente dans les élevages étudiés, occasionnant des pertes économiques considérables et constituent une menace zoonotique réelle.

Nous avons pu mettre en évidence des cryptosporidies dans 76.32 % (29/38) des prélèvements individuels de frottis du côlon étaient positifs à *Cryptosporidium* (**Tableau 02**). À l'instar des espèces bovines, aviaires et équines étudiées chez nous, et dans lesquelles les prévalences variaient respectivement, de 22.08% à 47.80%, de 41.1% à 52.5% et 2.9% la prévalence élevée que nous avons relevée démontre la fréquence de la maladie dans l'espèce cunicole. Elle serait la conséquence des mauvaises conditions d'élevage et de nettoyage par de l'eau chaud avec pression, en addition au climat algérois chaud avec très grande résistance dans l'environnement. Le parasitisme serait maintenue par la présence de sujet adulte infecté, porteur asymptomatique, constituant un véritable réservoir du fait de l'excrétion cyclique qui s'accroîtrait, tout comme dans l'espèce bovine [74, 75], au tour des mise bas. De même, nous pensons que la particularité de la physiologie digestive des lagomorphes « cæcotrophie » serait un facteur déterminant à explorer et à considérer lors d'éventuelles étude ultérieures.

En Europe, les prévalences enregistrées chez le lapin, qu'il soit domestique ou sauvage, sont moins importantes en raison probablement de la différence de climat et des respects des normes d'élevages, d'après [80], aucun des 232 prélèvements réalisée en Allemagne n'aient positifs alors que 0.9% des 109 prélèvement examiné au royaume UNI aient positif au Cryptosporidies [76, 77] . En Roumanie, un résultat négatif est obtenu suite aux analyses coprologiques effectuées sur 33 lapins bien que des enquêtes antérieures ont révélé des prévalences allons de 16 à 50% [75]. En Australie, cryptosporidium a été détecté chez 12 lapins soit une prévalence de 6.8% sur 176 prélèvements individuels de matières fécales [72]. Ces grandes fluctuations dans les données chiffrées de prévalence dépendraient particulièrement

de la région et de l'espèce ciblée, de la taille et du mode d'échantillonnage, des méthodes utilisées pour la recherche des parasites et facteurs de risque pris en considération[12].

Concernant la fréquence des isollements de *Cryptosporidium* chez les mâles et les femelles, les résultats obtenus montrent une prévalence élevée pour les deux sexes 86.4% et 62.5%. De même, les prévalences enregistrées à l'échelle nationale, sont également comparable pour les 2 sexes dans l'espèce bovine [2, 9] et équine[14] ; elles sont expliquées par le parage collectif et dans des animaux permettant la contamination massive et de degré d'infestation très élevé entre moyenne et massive, continue de l'environnement [2, 9, 78, 79].

**Conclusion et
recommandations**

Conclusion & Recommandations

Notre enquête a permis d'identifier l'agent de la cryptosporidiose chez des lapins sevrés appartenant à l'espèce d'élevage élevée dans la ferme expérimentale de Baba Ali-Alger. Ainsi que Le facteur sexe n'a pas, dans la présente étude, un rôle dans l'infestation. Donc, en utilisant uniquement la méthode de diagnostic par coloration, *Cryptosporidium spp.* Est très fréquemment rencontré avec une prévalence importante qui dépasse 70%.

En dépit de l'espèce animale ciblée, nos résultats corroborent ceux obtenus par plusieurs auteurs, en ce qui concerne la prévalence, le rôle du facteur sexe dans la dissémination de cette parasitose et le diagnostic de suspicion établi pour l'espèce de *Cryptosporidium parvum* responsable de zoonose.

Recommandation :

En complément à l'étude que nous venons de conduire, plusieurs aspects peuvent être envisagés et développés ; brièvement, nous préconisons des études prospectives où d'autres techniques seraient utilisées « histopathologie pour le diagnostic rapide et biologique moléculaire pour déterminer les différentes espèces mises en cause » et dans lesquelles seront pris en compte d'autres facteurs, tels que la race, la période néonatale *ante* sevrage et l'âge adulte « inclure les reproducteurs », le gain de poids, les mortalités suite à des diarrhées, les cas pathologiques avec diarrhées, la saison, le climat « si la zone d'études est étendue à plusieurs régions du pays », la conduite d'élevage « type de bâtiments, alimentation, les traitements antiparasitaires et les processus de désinfection adoptés, hygiène du personnel ».

Sachant qu'il n'existe aucun traitement spécifique contre la cryptosporidiose, et compte tenu de la grande résistance des oocystes dans le milieu extérieur, nos recommandations, afin de réduire la propagation de cette maladie dans les élevages cunivole et minimiser les pertes économiques qui en résultent, consistent à appliquer les mesures prophylactiques suivantes :

- ✓ Instaurer un dépistage systématique de *Cryptosporidium* aussi bien dans les cas pathologiques que lors d'exams de routine.
- ✓ Respecter les règles d'hygiène élémentaires en élevage :
 - Retrait quotidien des matières fécales.
 - Nettoyages et désinfections quotidiens en utilisant des procédés efficaces (chaleur).
 - Isoler les sujets malades et éliminer les cadavres.

- ✓ Etablir de bonnes conditions d'élevage en matière de suivi et d'alimentation.
- ✓ Inculquer les règles strictes d'hygiène au personnel en contact avec les élevages.

**Références
bibliographiques**

1. Current W., *Cryptosporidiosis. Clin Microbial. Rev.* 1991. 4(3), 325-58.
2. Akam A., Kaidi R., Abdulhussain M., Suteu E. et Cozma V., *Epidémiologie de la Cryptosporidiose bovine dans une région de Mitidja de l'Algérie. Scientia Parasitologica.*, 2002. p. 22-27.
3. Burgaud., A. *PATHOLOGIE DIGESTIVE DU LAPIN EN ELEVAGE RATIONNEL. These de doctorat veterinaire.* 2010. 30-31.
4. Certad G., *De la caractérisation génétique et phénotypique de Cryptosporidium(Alveolata: Apicomplexa) à la mise en évidence du rôle de C. parvum dans l'introduction de néoplasie digestive.*, 2008. 17.
5. Tyzzer E., *A sporozoan found in the peptic glands of the common mouse.* 1907. 5, 12-13.
6. Derouin F., Pouillot R., Rose S. *Rapport sur " les infections à protozoaires liées aux aliments et à l'eau" : " Evaluation scientifique des risques associées à Cryptosporidium spp".* 2002.
7. Euzéby J., *Les parasites humains d'origine animale : caractère épidémiologique.* 1984(Flammarion Medecine Science.): p. 324.
8. Popinson g., *The European Rabbit(Oryctolagus cuniculus), a Source of Zootic Cryptosporidiosis. Zoonoses Public Health.* 2009.
9. Akam A., Khelef D., Kaidi R., Bouchène Z., Cozma V et Suteu E. *Cryptosporidiose bovine dans la région de Mitidja (Algérie).* 2007. 64, 344-350.
10. Ouchene N., *Prévalence de Cryptosporidium spp. et Giardia spp. chez les bovins de la région de sétif au nord-est de l'Algerie.* 2012. 65(3-4), 53-56.
11. Baroudi D., K.D., Belmadani S., Azeroual S., Xiao L., et Bachi F., *prévalence de trois protozoaires pathogènes chez le veau et impact sur l'état de santé.* 2010(Revue Pratique Vétérinaire.): p. 17-23.
12. Goucem R., *Prévalence de l'infection à Cryptosporidium spp. Dans quelques élevages de poulets de chair et de dindes dans les régions de Boumerdes et Alger.* 2013. 39.
13. Guechtouli S., *Etude de prévalence de l'infection à Cryptosporidium spp. Chez le poulet de chair et la dinde chair dans quelque élevage de la wilaya de Boumerdes.* 2011: p. 25.
14. Laatamna A., Aissi M., Rost M., et Kvac M. *Equine cryptosporidial infection associated with Cryptosporidium hedgehog genotype in Algeria.* 2013. 4.
15. Clark J., *A study of coccidia met with in mice.*J. Microsc. 1895. 37, 277-302.
16. Slavin D., *Cryptosporidium meleagridis(Sp.nov).*J. Comp. Pathol. 1955. 65, 262-266.
17. Panciera R., Garner F., *Cryptosporidial in a calf.* Vet. Pathol. 1971. 8, 479-484.
18. Meisel J., Meligra C., Rubin C., *Overwhelming watery diarrhea associated with Cryptosporidium in an immunosuppressed patient.*, in *Gastroenterology* 1976. p. 1156-1160.
19. Nime F., Yardley J., *Acute enterocolitis in a human being infected with the protozoan Cryptosporidium Gastroenterology.*, 1976. p. 592-598.
20. Thérèse L., L.D., et Daniel A. 2010.
21. Dumoulin A., *Cryptosporidium spp. Fiches f CURIT f alimentaire d'un micro-organisme.* 2010.
22. Tyzzer E., *Cryptosporidium parvum (sp nov): a coccidian found in the small intestine of the common mouse.* 1912.
23. Fayer R., Morgan U., et Upton S., *Epidemiology of cryptosporidium transmission, detection.* 2000.
24. Smith H., *Environmental aspects of Cryptosporidium species, A review J.R.soc, Med.* 1990. 83., 629-631.

25. Hijjawi N., Olson M., *Complete development of Cryptosporidium parvum in host cell free culture. Int. J. Parasitol*, 2004. 34, 769-777.
26. Barta R., *What is Cryptosporidium? Reappraising its biology and phylogenetic affinities, Trends in parasitology*. 2006. 22(10): p. 463-468.
27. Lindsay D., *Cryptosporidium infections in cats and dogs. Comprend. Cont. Educ. Pract. Vet.* 2004. 26(11), 864-874.
28. Kirkpatrick C., *Enteric coccidial infectio. Isospora .Sarcocystis. Cryptosporidium, Besnoitia, and Hammondia. Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 1987. 17(6). 1405-1420.
29. Kirkpatrick C., *Enteric coccidial infections. Inspora, Sacrocystis, Cryptosporidium, Besnoitia, and Hammondia. Vet. Clin. North Am. Small Amin. Pract.* 1987. 17(6), 1405-1420.
30. Smith L., *Pattern of Cryptosporidium parvum oocyst excretion by experimentally infected dogs. Int. j. Parsitol.* 1997. 27(7), 799-801.
31. Augustin-Bitchl G., Henkel G., *Cryptosporidium infections in dogs and cats. Berl. Munch. Tierarztl. Wschr.* 1984. 97, 179-181.
32. Bouzid M., Chalmers R., Tyler K., *Cryptosporidium Pathogenicity and Virulence. Clin Microbiol Rev.* 2013. 26(1). 115-34.
33. Fayer R., *General biology of Cryptosporidium.* 1990. 1-30.
34. Ungar B., et al, *Cryptosporidium infection in immunodeficient hosts. Infect. Immun.* 1990. 58, 961-969.
35. Fukushima K., *Cryptosporidiosis in a pup with distemper. Vet. Pathol.* 1984. 21, 247-248.
36. Turnwald G., Taylor W., Kreeger J., Coleman S., Pourciau S., *Cryptosporidiosis associated with immunodepression attributable to distemper in a pup. J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1988. 192., 79-81.
37. Tzipori S., *Cryptosporidiosis : biology, pathogenesis and disease. Microbes Infect.* 2002. 4, 1047-1058.
38. Boufassa., *Cryptosporidiose: une maladie animale et humaine cosmopolite.* 1988. 127.
39. Akam A., kaidi R., Touaright N., Uteu E., et Cozma V., *Effet des désinfectants sur la viabilité des oocystes de Cryptosporidium parvum d'origine bovine: Scientia Parasitologica.* 2005. (1-2) et (35-42).
40. Annie D., Jean M., *La diarrhée chez l'agneau : un sujet à (éviter); centre de référence en agriculture et agro-alimentaire de Québec.* 2009.
41. Gallouin F., *Particularités physiologiques et comportementales du lapin.* 1995., 13-20.
42. Lebas F., 2009.<http://www.cuniculture.info/>.
43. Inman.L.,R.Takeuchi A., *Spontaneous cryptosporidiose in an adulte female rabbit.,* 1979: Vet.Path. p. 89-95.
44. Veterling J., Merrill T., & Sprinz H., *Cryptosporidium wrairi sp.n. from the guinea pig, cavia porcellus with an emendation of the genus. J. protozool.,.* 1971. 18: p. 248-260.
45. Wood C., *The pet rabbit: veterinary problems.* 1978. 102, 304-308.
46. Nouaille B., *Maladies des lapins.* 2002. 271.
47. MOSIER DA. CIMON KY, K.T., OBERST RD, SIMONS KR *Expérimental cryptosporidiosis in adult and neonatal rabbits.* 1997. 69, 163-169.
48. TZIPORI S, W.H. *Cryptosporidiosis.* 2002. 4, 1047-1058.
49. VITOVEC *Variable localisation of cryptosporidia in the intestines of spontaneously infected calves.* 1984. 39, 201-205.
50. TZIPORI S., A.K.W., CAMPBELL I. & GRAY E.W., *Experimental infection of lambs with Cryptosporidium isolated from a human patient with diarrhoea. Gut.* 1982. 23: p. 71-74.

51. OKHYSEN PC, C.C., CRABB JH, STERLING CR, DUPONT HL. *Virulence of three distinct* 1999. 180, 1275-1281.
52. BLEWETT D, A.W.S.E., CASEMORE D P. BOOTH E. JONE C.E *infective dose size studies on Cryptosporidium parvum using gnotobiotic lambs*. 1993. 27, 61-64.
53. WEBER R. BRYAN R.T., J.D.D. *Improved stool concentration procedure for detection of cryptosporidium oocysts in fecal suspension* *J.Clin. Microbiol*, 1992. 30, 2869-2873.
54. Pohlenz., H.e. *Staining of Cryptosporidium by a modified Ziehl-Neelsen technique*. 1981. 22 (3-4). 592-596.
55. Bussierras J., e.C.R. *Parasitologie vétérinaire, Parasitologie générale. Polycopie. ENVA. .* 1991. 75.
56. KIM J.T., W.S.H., LEE C.G. *Detection of Cryptosporidium occysts in canine fecal samples by immunofluorscence assay*. *Korean J. Parasitol*. 1998. 36., 147-149.
57. MTAMBO M.M., N.A.S., BLEWETT D.A., WRIGHT S. MTAMBO M.M., NASH A.S., BLEWETT D.A., WRIGHT S. *specimens*. *Vet. Parasitol*. 1992. 45, 49-57.
58. GRACZYK T.K., C.M.R., FAYER R., R.(1996) *Evaluation of commercial enzyme immunoassay (EIA) and immunofluorescent antibody (FA) test kits for detection of Cryptosporidium oocysts of species other than C. parvum*. *Am.J.Trop. Med.Hyg*. 1996. 54: p. 274-279.
59. Cirak V.Y., B.C. *Comparison of coventional coproscopical methods and commercial coproantigen ELISA kits for the detection of Giardia and Cryptosporidium infection in dogs and cats*. 2004. 117, 410-413.
60. SCORZA A.V., B.M.M., LAPPIN M.R., *Polymerase chain reaction for the detection of Cryptosporidium spp. in cat faeces*. *J. Parasitol*. 2003. 89.: p. 423-426.
61. LINDEGARD G., N.D.V., WADE S.E., et al., *A novel multiplex polymerase chain reaction approach for detection of four human infective Cryptosporidium isolates : Cryptosporidium parvum, types H and C, Cryptosporidium canis, and Cryptosporidium felis in fecal and soil samples*. *J. Vet. Diagn. Invest*. 2003. 15: p. 262-267.
62. SOAVER., B.B.L.e., *Prophylaxis and chemotherapy : human and animal*. In : *Cryptosporidium and Cryptosporidiosis, 1st Ed. CRC press,*. 1997: p. 111-128.
63. BARR S.C., G.W.G., JAMROSZ G.F. et al., *Paromomycin for the treatment of Cryptosporidium in dogs and cats*. *J.Vet.Int.Med.,.* 1994. 8: p. 177.
64. GOOKIN J.L., L.M.G., LAW J.M., PAPICH J.M., POORE M.F., BREITSCHWERDT E.B. *Experimental infection of cats with Tritrichomonas foetus*. *Am. J. Vet. Res*. 2001. 62, 1690-1697.
65. GOOKIN J.L., R.J.E., GILGER B.C., PAPICH M.G., *Acute renal failure in four cats treated with paromomycin*. *J. Am.Vet Med.Assoc*. 1999. 215 : 1806: p. 1821-1823.
66. Anonyme *Cryptosporidioses*.
67. GREENE CE, J.G., PRICKETT D., *Intestinal malabsorption and cryptosporidiosis in an adult dog*. *J.Am.Vet.Med.Assoc*. 1990. 197: p. 365-367.
68. OIE *Identification de Cryptosporidium spp. chez l'espèce Oryctolagus cuniculus domesticus-étude préliminaire-*. 2013. 17.
69. J., E. *Caractere generaux des apicomplexa. Protozool. Med. Comp. Vol.2. Fondation Marcieux. Lyon*. 1984. 84-100.
70. Smith MU, C.S., Cook N, Nickols RAB, Tait A. *Cryptosporidium and giardia as foodborne zoonose*. *Vet. Parasitol*. 2007. 149, 29-40.
71. Ouakli N. *Prévalence de la cryptosporidiose chez le veau et les facteurs de risque dans la wilaya de blida. mmoire de magister. .* 2011. 95.

72. Nolan M.J., J.A.R., Haydon S.R., Stevens M.A. et Gasser R.B. *Molecular detection of Cryptosporidium cuniculus in rabbits in Australia. Infection, Genetics and Evolution.* 2010. 10, 1179-1187.
73. N., O. *Prévalence de la cryptosporidiose chez le veau et les facteurs de risque dans la wilaya de Blida. Mémoire de Magister. Département des sciences vétérinaires, université Saad Dahlab.* 2011. 95.
74. Sisk D.B., G.E.L., Branch L.O., *Intestinal cryptosporidiosis in two pups. J. Am. Vet. Med. Assoc.,* 1984. 184(7), 835-836.
75. Darabus GH., C.I.O.I.e.M.S. *Epidémiologie de la cryptosporidise chez les animaux dans l'Ouest de la Roumanie.* 2001. 152 (5). 399-404.
76. Chalmers R.M. *The distrubition of Cryptosporidium in livestock and wild animal populations on a warwickshire farm. Coventry University, Coventry.* 1996.
77. Chalmers R.M., S.A.P., Bull S.A. et Miller A., *Rodent reservoirs of Cryptosporidium. IN : Betts, .B., Casemore, D., Fricker, C., Smith, H., Watkins, J. (Eds), Protozoan Parasites and Water. Royal Society of Chemistry, Cambridge,* 1995,. 63-66.
78. A.E., G. *La cryptosporidiose: diagnostic parasitologique, infections naturelles chez onze especes animales et chez l'homme et etude des effets de l'immunodéficiencie et de l'immunostimulation expérimentales chez le lapereau.* 1992. 1-82.
79. Chermette R., B.O.S. *Cryptosporidiose: une maladie animale et humaine cosmopolite.* 1988. 127.
80. Epe et al, 2004.