

N° d'ordre :

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

People's Democratic Republic of Algeria

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministry of Higher Education and Scientific Research



معهد العلوم البيطرية
Institute of Veterinary
Sciences

جامعة البليدة 1
University Blida-1



Mémoire de Projet de Fin d'Etudes en vue de l'obtention du
Diplôme de Docteur Vétérinaire

Etude de la cryptosporidiose chez le lapin

Présenté par

Feghoul Ines

Soutenu le **19/09/2024**

Présenté devant le jury :

Présidente :	OUAKLI Nadia	MCA	ISV/Blida 1
Examineur :	DAHMANI Hichem	MCA	ISV/Blida 1
Promotrice :	TARZAALI Dalila	MCA	ISV/Blida 1
Co-Promotrice :	BOUKERT Razika	MCA	ISV/Blida 1

Année universitaire **2023/2024**

REMERCIEMENTS

Avant tout, je remercie **ALLAH** tout-puissant, qui m'a guidé tout au long de ma vie et m'a donné la santé, le courage, la patience et la volonté pour passer tous les moments difficiles afin de mener à terme ce mémoire.

La réalisation de ce mémoire n'aurait jamais été possible sans l'aide patiente, les conseils avisés et les orientations précieuses de ma promotrice Dr Dalila TARZAALI, maître de conférences A, à l'institut des sciences vétérinaires de l'université de Blida 1. J'exprime ma profonde gratitude pour sa contribution essentielle du début à la fin de ce projet.

Je remercie très chaleureusement ma Co-promotrice Dr Razika BOUKERT, maître de conférences A, à l'institut des sciences vétérinaires de l'université de Blida 1, pour son inspiration, son assistance et le temps précieux qu'elle m'a consacré tout au long de l'élaboration de ce mémoire.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements au Dr Nadia OUAKLI, maître de conférences A, à l'institut des sciences vétérinaires de l'université de Blida 1, qu'elle reçoit toute l'expression de ma gratitude pour avoir accepté de faire partie et présider ce jury et pour l'intérêt porté à ce travail. Ainsi qu'au Dr Hichem DAHMANI, maître de conférences A, à l'institut des sciences vétérinaires de l'université de Blida 1, d'avoir accepté de faire partie du jury de mon mémoire, et vouloir apporter ses correctifs pertinents.

Je remercie Pr KHELAF et Pr BAROUDI ainsi que toute l'équipe de laboratoire de parasitologie (ENSV) d'Alger, pour leur accueil au laboratoire.

J'adresse mes sincères remerciements à tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé mes réflexions et ont accepté de me rencontrer et de répondre à mes questions durant mes recherches.

DEDICACES

A toutes les personnes qui m'ont soutenu et encouragé tout au long de ce parcours académique et à tous ceux qui ont joué un rôle dans la réalisation de ce mémoire, je vous suis profondément reconnaissante.

A ma très chère mère

Quoi je fasse ou que je dise ; je ne saurai point te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre ; ta bienveillance me guide et ta présence à mes cotés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.

A mon très cher père

Tu as toujours été à mes cotés pour me soutenir et m'encourager. Que ce travail traduit ma gratitude et mon affection.

A mon âme sœur qui est toujours là pour moi merci d'être dans ma vie.

A ma chère sœur kaouther et mon brat droit Abderrahmene

A toutes mes copines : Fatma zahra ; Loubna ; Achwak ; Houda ;Hiba

Puisse Dieu vous donne de la santé ; le bonheur ; le courage et surtout la réussite.

A tous ceux qui me sont trop chère et que j'ai omis de citer.

Ines

RESUME

La cryptosporidiose est une protozoose à répartition mondiale. Elle est causée par un parasite nommé *Cryptosporidium spp* ; qui occasionne une atteinte digestive aussi bien chez l'homme que chez l'animal, notamment chez le lapin. Elle occasionne d'importantes pertes économiques dans un élevage.

Une étude préliminaire a été réalisée au niveau de la ferme expérimentale de l'université de Blida 1 ayant pour objectif, la mise en évidence du *Cryptosporidium spp* dans la matière fécale du lapin. Un total de 20 prélèvements de matières fécales de lapins ont été récoltés de différents lots. Deux méthodes de diagnostic ont été utilisées pour la mise en évidence de *Cryptosporidium spp*, la technique de Ritchie pour l'enrichissement suivi de la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée.

Les résultats obtenus indiquent une prévalence très élevée dans les matières fécales prélevées (80 %) avec un degré d'infestation faible (+1) à moyen (+2) (81,25 % et 18,75 %, respectivement). Par ailleurs, les résultats de la présente étude ont montré que la prévalence de la cryptosporidiose chez les mâles (100%) est plus élevée que celle enregistrée chez les femelles (60%). Avec un taux d'infestation similaire a été relevé chez l'adulte et les jeunes lapins (75%). Ce qui nécessite un dépistage systématique du parasite et une hygiène systématique dans cette ferme.

Mots clés : Cryptosporidiose, matière fécale, lapin, la technique de Ritchie, coloration de Ziehl-Neelsen modifiée.

ABSTRACT

Cryptosporidiosis is a protozoan disease with a worldwide distribution. It is caused by a parasite called *Cryptosporidium spp*; which causes digestive damage in both humans and animals, especially rabbits. It is the cause of major economic losses.

A preliminary study was conducted at the experimental farm of the University of Blida 1, aiming to demonstrate *cryptosporidium spp* in rabbit faecal matter. A total of 20 samples of rabbit faeces were taken from different batches. Two diagnostic methods were used to detect *Cryptosporidium spp*, the Ritchie technique for enrichment followed by modified Ziehl-Neelsen staining.

The results obtained indicate a very high prevalence in the faeces collected (80%) with a low (+1) to medium (+2) degree of infestation (81.25% and 18.75%, respectively). Furthermore, the results of the present study showed that the prevalence of cryptosporidiosis in males (100%) is higher than that recorded in females (60%). With a similar infestation rate for adults and young rabbits (75%). Which need systematic screening of the parasite and systematic hygiene in this farm.

Key words: Cryptosporidiosis, faeces, rabbit, Ritchie technique, modified Ziehl-Neelsen staining.

ملخص

داء خفيات الأبواغ هو مرض من الأولي منتشر في جميع أنحاء العالم. ويسببه طفيلي يسمى ويسببه طفيلي يسمى

Cryptosporidium spp.

والذي يسبب أضراراً في الجهاز الهضمي عند الإنسان والحيوان، وخاصة الأرانب ويسبب خسائر اقتصادية كبيرة. تم إجراء بحث أولي بالمزرعة التجريبية لجامعة البلدة 1. و تهدف الي اظهار الكريبتوسبورديوم سبب في براز الارانب. تم جمع 20 عينة من براز الأرانب من دفعات مختلفة.

للكشف عن بكتيريا ، وهي تقنية ريتشي للتخصيب متبوعة بصبغة المعدلة زيل نيلسن.

تشير النتائج التي تم الحصول عليها إلى انتشار مرتفع للغاية في البراز المجمع (80%) مع درجة إصابة منخفضة (+1) إلى متوسطة (+2) (81.25% و 18.75% علي التوالي). علاوة على ذلك، أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن معدل انتشار داء خفيات الأبواغ عند الذكور (100%) أعلى منه عند الإناث (60%). مع نسبة إصابة مماثلة للأرانب البالغة وصغار الأرانب (75%). والذي يحتاج الي الفحص المنهجي للطفيلي والنظافة المنهجية في هذه المزرعة

الكلمات المفتاحية: الكريبتوسبورديوم س ب ب ، البراز ، الأرانب، تقنية ريتشي، صبغة زيل نيلسن المعدلة

SOMMAIRE

Introduction	1
Partie bibliographique	
Chapitre 1 : Généralité sur le <i>Cryptosporidium</i>	2
1.1. Définition	2
1.2. Historique	2
1.3. Taxonomie	4
1.4. Cycle évolutif	4
1.4.1. Caractéristiques du cycle	4
1.4.1.1. Excystation	5
1.4.1.2. Mérogonie (anciennement dénommée schizogonie)	6
1.4.1.3. Gamétogonie	7
1.4.1.3. Sporogonie ou sporulation	8
1.4.2. Particularités du cycle du <i>Cryptosporidium</i>	8
1.4.3. Résistance des oocystes	9
1.4.3.1. Résistance dans l'environnement	9
1.4.3.2. Résistance dans l'eau	9
1.4.3.3. Résistance hors de l'eau	10
1.4.3.4. Résistance aux procédés de désinfection	10
Chapitre 2 : Généralité sur la Cryptosporidiose chez le lapin	11
2.1. Epidémiologie	11
2.1.1. Epidémiologie descriptive	11
2.1.2. Source de parasite	11
2.1.3. Transmission	11
2.1.4. Réceptivité et sensibilité	11
2.1.5. Pathogénie	12
2.1.6. Etude clinique	12
2.1.7. Diagnostic	12
2.1.7.1. Diagnostic épidémiologique et clinique	12
2.1.7.2. Diagnostic de laboratoire	13
2.1.7.3. Description macroscopique	13

2.1.7.4. Description microscopique (Microscopie conventionnelle)	13
2.1.7.5. Méthodes de concentration	14
2.1.7.6. Méthodes de coloration	14
2.1.7.6. Méthodes immunologiques	16
2.1.7.7. Diagnostic de biologie moléculaire	16
2.1.7.8. Cytométrie de flux	17
2.1.7.9. Diagnostic histologique	18
2.1.8. Traitement	18
Partie expérimentale	
1. Objectifs	20
2. Matériel et méthodes	20
2.1. Lieu et durée de l'expérimentation	20
2.2. Logement des animaux	20
2.3. Matériel	21
2.3.1. Matériel biologique (Animaux)	21
2.3.2. Matériels de laboratoire et instruments	21
2.4. Méthodes	21
2.4.1. Protocole de prélèvement	21
2.4.2. Méthodes utilisées au laboratoire	22
2.4.2.1. Examen macroscopique	22
2.4.2.2. Examen microscopique	23
2.4.2.2.1. Technique utilisée pour la mise en évidence des cryptosporidies	23
3. Résultats	30
3.4. Résultats obtenus par l'examen macroscopique des crottes	30
3.5. Résultats de l'examen microscopique	30
3.5.1. Prévalence du cryptosporidiose dans la ferme expérimentale	31
3.5.2. Prévalence de cryptosporidiose en fonction du sexe	31
3.5.3. Prévalence de <i>cryptosporidium</i> en fonction de l'âge	32
3.5.4. Intensité de l'infestation du parasite	33
4. Discussion	34
Conclusion	36
Références bibliographiques	37
Annexe	

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Ookystes de <i>Cryptosporidium</i> [11]	2
Figure 2 : Cycle évolutif de <i>Cryptosporidium spp.</i> dans l'intestin grêle [19]	5
Figure 3 : Microphotographie du trophozoïte (ME transmission)[21]	6
Figure 4 : Image au microscope électronique d'un méronte immature contenant des mérozoïtes [22]	7
Figure 5 : Macrogamonte [21]	7
Figure 6 : Microgamonte [21]	8
Figure 7 : Microphotographie du sporozoïte (ME à balayage) [21]	8
Figure 8 : Cryptosporidiose intestinale à <i>Cryptosporidium parvum</i> [27]	12
Figure 9 : Oocystes de <i>Cryptosporidium sp</i> en microscopie optique [35]	13
Figure 10 : Station expérimentale de l'université de Blida 1	20
Figure 11 : Laboratoire de parasitologie (ENSV)	20
Figure 12 : Cages individuels	21
Figure 13 : Lapin <i>Oryctolagus Cuniculus</i>	21
Figure 14 : Tubes secs identifiés	22
Figure 15 : Protocole de prélèvement et de la recherche des oocystes de <i>Cryptosporidium</i>	22
Figure 16 : Prélèvement de l'échantillon	23
Figure 17 : Pesé du prélèvement	23
Figure 18 : Dilution du prélèvement avec du formol à 10 %	24
Figure 19 : Homogénéisation du prélèvement	24
Figure 20 : Filtration du prélèvement	24
Figure 21 : Décantage du contenu filtré	24
Figure 22 : Séparation du surnageant	25
Figure 23 : Addition de l'éther	25
Figure 24 : Centrifugation du liquide homogène	25
Figure 25 : Elimination du surnageant	25
Figure 26 : Culot restant	25
Figure 27 : Préparation du frottis (A : Prélèvement du culot ; B : dépôt du culot sur la lame ; C : réalisation du frottis)	26
Figure 28 : Fixation avec le méthanol	27
Figure 29 : Coloration avec la fuchsine Phéniquée	27
Figure 30 : Rinçage à l'eau	27
Figure 31 : Différenciation avec l'acide sulfurique à 2%	27

Figure 32: Contre coloration avec le vert de malachite à 5%	28
Figure 33: Deuxième rinçage	28
Figure 34: Séchage à l'air	28
Figure 35: Observation au microscope optique (G x 100)	28
Figure 36: <i>Cryptosporidium</i> après coloration de Ziehl-Neelsen modifiée	29
Figure 37: Prévalence globale du cryptosporidiose chez le lapin	31
Figure 38: Prévalence de la cryptosporidiose selon le sexe des lapins	32
Figure 39: Prévalence de la cryptosporidiose selon la catégorie d'âge des Lapins	33

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Classification taxonomique [16]	4
Tableau 2 : Caractéristiques physiques des excréments chez les lapins	30
Tableau 3 : Prévalence globale du cryptosporidiose chez le lapin	31
Tableau 4 : Prévalence de la cryptosporidiose selon le sexe des lapins.	32
Tableau 5 : Prévalence de la cryptosporidiose selon la catégorie d'âge des lapins	32
Tableau 6 : Distribution de l'intensité de l'infestation du parasite	33

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN: Acide désoxyribonucléique

AFLP: Amplified Fragment Length Polymorphism

ARN: Acides ribonucléiques

ELISA: Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay

ENSV : Ecole national supérieure vétérinaire

FISH: Fluorescent in situ hybridization

FITC-C-mAB: Fluorescein isothiocyanate-conjugated anti -*Cryptosporidium* monoclonal antibody

ISV : Institut des sciences vétérinaires

MF: Matière focale

pH : Potentiel Hydrogène

RAPD: Random Amplification of Polymorphic DNA

RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism

SAF: Sodium Acetate – aceticacid – Formaldehyde.

INTRODUCTION

Le lapin est une espèce mammifère à intérêt économique indéniable grâce à la production de viande, de fourrure et de laine. Sa viande constitue une source de protéines importante pour les pays non industrialisés [1]. La production de viande de lapin provient principalement des fermes traditionnelles composées de lapins de la population locale, mais aussi dans une petite partie des fermes dites modernes, qui sont constituées de souches sélectionnées [2]. Actuellement, ces deux types d'élevage coexistent en Algérie [3, 4].

Cependant, quelques contraintes peuvent être rencontrées par ces types d'élevages. En effet les lapins sont souvent exposés à un risque d'infection de leur système digestif. Ces infections peuvent être d'origine biologique (virus, bactéries, parasites...) ou d'origine non biologique (alimentation, stress...) [5]. L'infestation parasitaire constitue l'une des principales contraintes qui entrave le développement de la production cunicole notamment les endoparasites [6], notamment la cryptosporidiose. Cette dernière est une parasitose cosmopolite causée par un *Cryptosporidium*. Longtemps, considéré comme une zoonose rare ne concernant que les personnes exposées (éleveurs et vétérinaires) [7]. Ces pathologies digestives sont la cause de grandes pertes économiques en raison non seulement de la mortalité qu'elles entraînent, mais aussi des frais vétérinaires et du manque à gagner, dû à une plus faible croissance des animaux malades [8].

Notre travail se compose de deux parties :

- Une partie bibliographique sur les généralités du *Cryptosporidium* et la cryptosporidiose du lapin.
- Une partie expérimentale pour la recherche de *Cryptosporidium spp* dans la matière fécale du lapin.

Partie bibliographique

Chapitre 1
Généralités sur le *Cryptosporidium*

1.1. Définition

La cryptosporidiose est une parasitose émergente opportuniste, l'agent causal est un protozoaire intracellulaire de la famille des coccidies appartenant au genre *Cryptosporidium* [9]. Les parasites de *Cryptosporidium* sont de très petites coccidies intracellulaires obligatoires. Ils colonisent le tractus intestinal ainsi que d'autres sites extra-digestifs peu communs (Conjonctive de l'œil, poumons, vésicule biliaire, les ganglions lymphatiques, gonades et voies utéro-vaginales) [10].

On retrouve parfois des cryptosporidies sur des intestins de lapins diarrhéiques (Figure 1). Ce sont des parasites proches des coccidies. Il semblerait que chez le lapin, l'agent incriminé soit *Cryptosporidium parvum*.

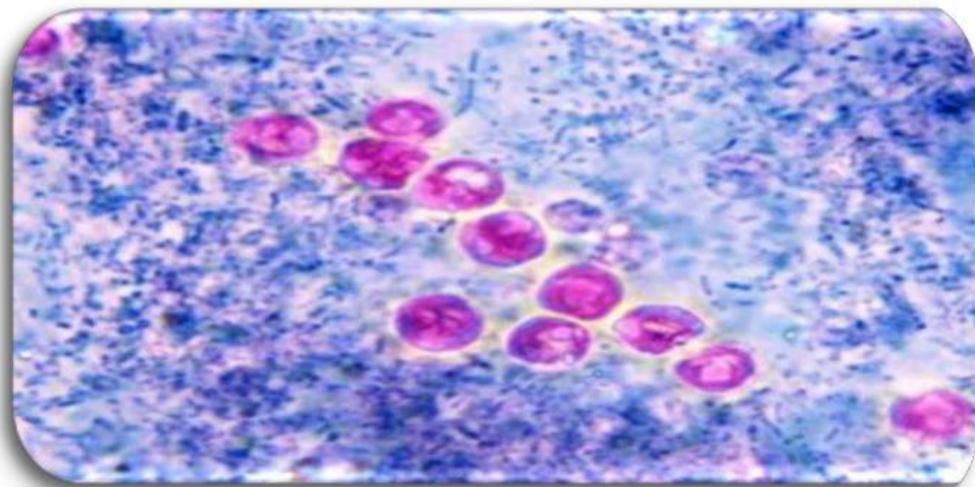


Figure 1 : Oocystes de *Cryptosporidium* [11].

1.2. Historique

En 1907, Tyzzer [12], a décrit pour la première fois le genre *Cryptosporidium* après une longue observation de ce protozoaire, parasite dans les glandes gastriques d'une souris de laboratoire (*Mus musculus*). Trois ans plus tard, Tyzzer décrivit aussi des stades sexués et asexués chez le parasite, ainsi qu'un attachement aux cellules épithéliales gastriques de l'hôte par le biais d'une organelle spécialisée. Il détailla alors les caractéristiques permettant d'établir un nouveau genre de sporozoaires apparenté aux coccidies : *Cryptosporidium*. Tyzzer proposa la création d'un nouveau

genre nommé *Cryptosporidium* afin de classer *C.muris*. En 1912, il décrit, toujours chez la souris, l'espèce *C.parvum*.

En 1925, Triffitt [13], décrit *C. crotali* chez les serpents à sonnette (*Crotalus confluens*) et en 1955, Slavin décrit *C. meleagridis* chez le dindon (*meleagris gallopavo*) pour la première fois, l'association entre le parasite et des manifestations clinique est établie.

De 1961 à 1986, dix-neuf autres espèces de *Cryptosporidium* ont été décrites chez des reptiles, des poissons, des oiseaux et des mammifères.

Les premiers cas humains ont été rapportés en 1976, un cas chez une personne immunocompétent et un cas chez un patient immunodéprimé. Ce n'est qu'après 1981, avec l'explosion du sida, que *Cryptosporidium* fut reconnu comme agent responsable de diarrhée chez l'homme. La majorité des épidémies de cryptosporidiose recensées ont une origine hydrique. De nombreuses épidémies ont été rapportées entre 1984 et 1999, principalement en Amérique du Nord, au Royaume-Uni et au Japon, la plus grave étant celle déclarée en 1993 à Milwaukee (États-Unis d'Amérique), Elle aurait touché plus de 400 000 personnes ayant bu de l'eau du robinet contaminée.

Les premiers travaux sur la cryptosporidiose en Algérie ont été réalisés par Akam et al., en 2007 [14], chez les bovins de la région de la Mitidja.

1.3. Taxonomie

Le genre *Cryptosporidium* est un parasite unicellulaire : donc appartenant au règne des Protistes, embranchement des *Apicomplexa*, classe des *Coccidea*, ordre des *Eimerida*, famille des *Cryptosporidae* (Tableau 1). Actuellement, 38 espèces de *Cryptosporidium* ont été identifiées, chez l'Homme, les animaux et dans l'environnement Il semblerait que chez le lapin, les espèces incriminées sont *Cryptosporidium parvum* et *cryptosporidium cuniculus* [15].

Tableau 1 : Classification taxonomique [16].

Règne	Protiste	Eucaryote unicellulaire
Embranchement	Protozoaire	Protiste à affinité animale hétérotrophe.
Phylum	Apicomplexa (Sporozoa)	Parasite obligatoire, intracellulaire, complexe apical à certain stade (organe de pénétration dans la cellule hôte).
Classe	Coccidea	Reproduction sexuée et asexuée, formation d'oocystes.
Ordre	Emiriida	Macrogamonte et microgamonte se développent indépendamment, zygote non mobile.
Famille	Cryptosporidiidae	Oocystes à 4 sporozoïtes nus, cycle monoxène.
Genre	<i>Cryptosporidium</i>	Le seul genre important.

1.4. Cycle évolutif

1.4.1. Caractéristiques du cycle

Le cycle du parasite est un cycle monoxène, ainsi toutes les étapes du développement interviennent chez un hôte unique [17]. 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 [18].

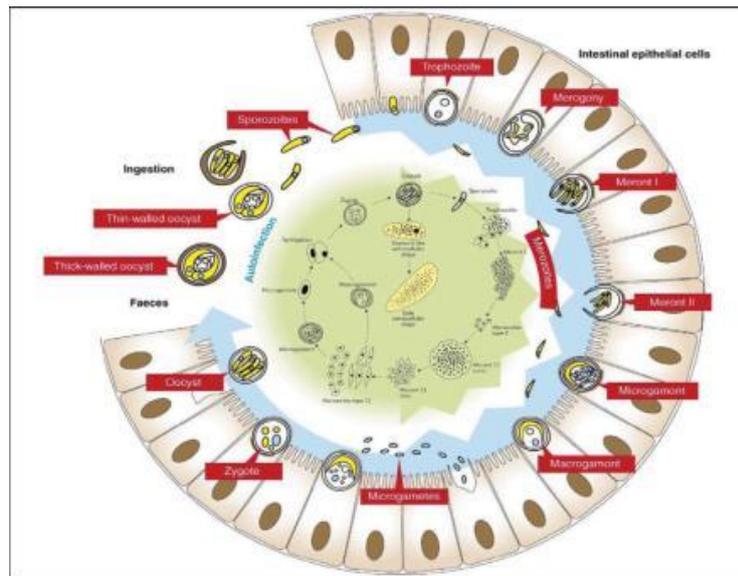


Figure 2 : Cycle évolutif de *Cryptosporidium* spp. dans l'intestin grêle [19].

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 [17, 18]. La période patente, correspondant à la durée totale d'excrétion des oocystes, est comprise entre quelques jours et quelques mois. Cette grande variabilité est fonction de l'immunocompétence de l'hôte et de l'espèce de *Cryptosporidium* incriminée [17]. L'oocyste est le seul stade parasitaire retrouvé dans l'environnement. Après son ingestion par l'hôte, le cycle se déroule en différentes étapes illustrées dans la figure 2 et décrites comme suit :

1.4.1.1. 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 3) en s'enfermant dans une vacuole parasitophore qui lui confère une position intracellulaire mais extra-

cytoplasmique. Le trophozoïte ainsi formé possède des organelles d'attachement avec le cytoplasme de la cellule-hôte participant notamment à sa nutrition [20].

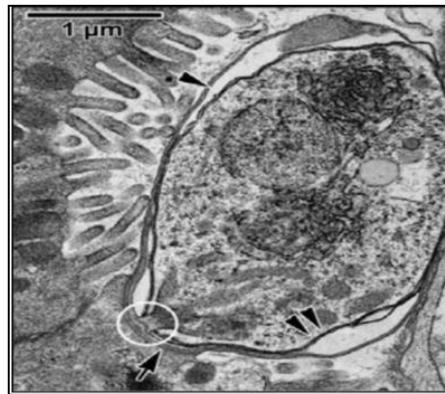


Figure 3 : Microphotographie du trophozoïte (ME transmission) [21].

1.4.1.2. 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 4). 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 (2^{ème} génération de la reproduction asexuée), soit ils peuvent initier un cycle auto-infectieux reformant des mérontes de type I [17, 20]. 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 4: Image au microscope électronique d'un méronte immature contenant des mérozoïtes [22]

1.4.1.3. Gamétogonie

Les mérozoïtes de 2^{ème} génération vont ensuite initier le cycle sexuel du parasite. Ils sont libérés puis envahissent de nouvelles cellules épithéliales se différenciant en macrogamontes femelles ou en microgamontes mâles, illustrés sur les Figures 5 et 6.

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 [17, 20].

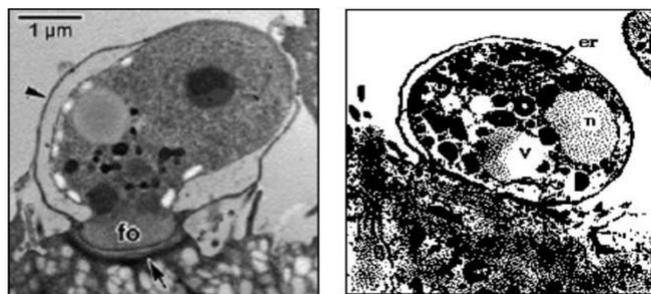


Figure 5: Macrogamonte [21].

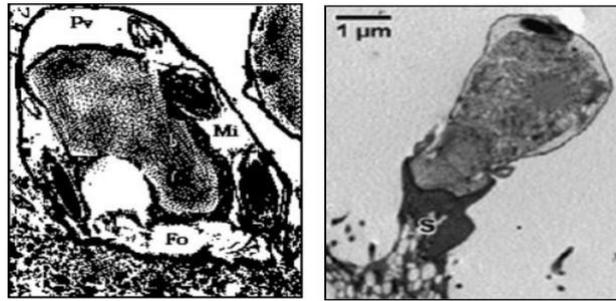


Figure 6: Microgamonte [21].

1.4.1.4. 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 7). 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 [17, 20].

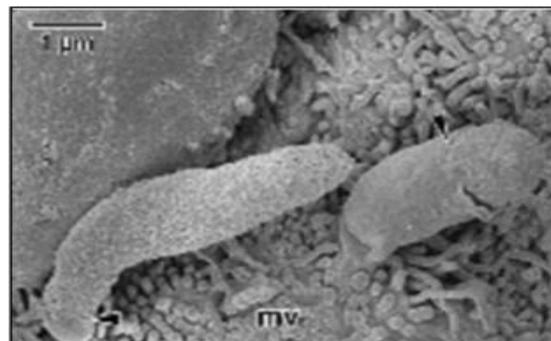


Figure 7 : Microphotographie du sporozoïte (Microscope électronique à balayage) [21].

1.4.2. Particularités du cycle du *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 [17, 20]. 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.

1.4.3. Résistance des oocystes

1.4.3.1. Résistance dans l'environnement

Les oocystes de *Cryptosporidium parvum* sont très résistants dans le milieu extérieur, que ce soit dans l'eau, le sol ou 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 désinfection de ceux-ci.

1.4.3.2. 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 [23]. 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 [18]. Cependant les oocystes sont très sensibles à une exposition à de hautes températures sur un temps court. L'exposition à des températures très basses ou la congélation conduit à une inactivation partielle des oocystes : 67% des oocystes sont inactivés après 21 heures passées à -22°C. Cependant, à -10°C pendant 7 jours ils demeurent viables [24]. L'effet de la salinité de l'eau sur la survie des oocystes a également été étudié. La viabilité de ceux-ci est plus importante pour des salinités et des temps d'exposition faibles mais même dans des conditions extrêmes (salinité de 35‰ à 18°C pendant 40 jours) les oocystes peuvent demeurer infectieux [18].

1.4.3.3. Résistance hors de l'eau

La résistance des oocystes dans le sol et les matières fécales dépend de nombreux facteurs [18, 24]. 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 [25]. Les différences observées entre ces trois types de sols s'expliqueraient par leurs pH spécifiques. En effet, il a été montré que le nombre d'oocystes était plus faible dans les sols à pH neutre ou basique que dans ceux à pH acide [18,24]. 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. Les oocystes sont très sensibles à la dessiccation : selon des études différentes seuls 3% restaient viables après 2h et seulement 5% après 4h à température ambiante [24].

En ce qui concerne les matières fécales, la survie des oocystes dépendrait de trois paramètres [23] :

- La température : des températures élevées et des phases de gel et de dégel alternées réduisent la viabilité des oocystes ;
- Le temps : l'obscurité tend à diminuer la viabilité ;
- La concentration en ammoniacque : des concentrations élevées peuvent entraîner une inactivation des oocystes.

1.4.3.4. Résistance aux procédés de désinfection

Les oocystes de *C. parvum* sont remarquablement résistants aux désinfectants utilisés couramment (composés alcalins ou contenant des aldéhydes, ammoniacques, du chlore ou de l'alcool) [17]. 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 [18, 25]. 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 [18].

Chapitre 2

Cryptosporidiose chez le lapin

2.1. Epidémiologie

2.1.1. Epidémiologie descriptive

Cryptosporidium spp est un protozoaire parasite du tube digestif de nombreux vertébrés y compris l'homme. La maladie qui résulte de l'infestation 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 [8].

2.1.2. Source de parasite

La forme infestante naturelle de *Cryptosporidium* est l'oocyste rejeté à l'extérieur de l'organisme infesté [26], ces oocystes sont en effet directement contaminants et permettent de reproduire la maladie chez les animaux exposés [27].

2.1.3. Transmission

La transmission du parasite se fait selon un mode oro-fécal. L'individu se contamine par l'ingestion de d'oocyste excrétés par l'hôte précédent. Les voies d'infections sont diverses et peuvent être directe ou indirecte (par le biais de l'eau, des aliments et parfois même de l'air) [28].

2.1.4. 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 [29].

2.1.5. Pathogénie

Chez le lapin, les modifications histologiques liées à l'infestation sont moins prononcées que pour d'autres espèces, avec une légère diminution de taille des villosités intestinales, une disparition des microvillosités des entérocytes où sont attachés les cryptosporidies, et un léger œdème de la *lamina propria* [30] (Figure 8).

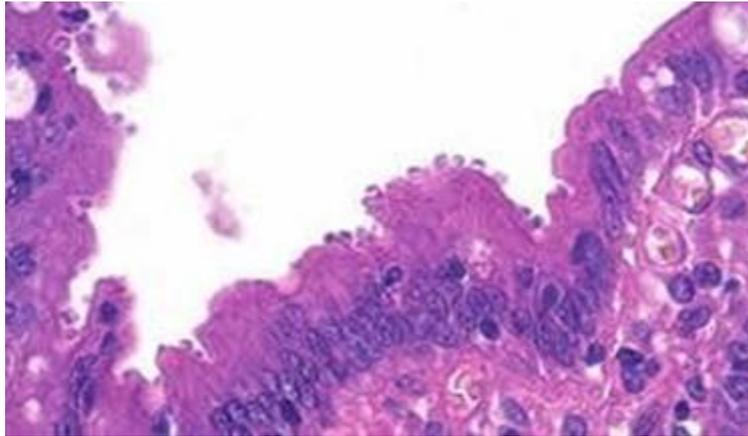


Figure 8 : Cryptosporidiose intestinale à *Cryptosporidium parvum* [27].

2.1.6. Etude clinique

L'infestation semble le plus souvent asymptomatique [30], mais de jeunes lapins de chairs âgés de 20 à 90 jours infectés par *Cryptosporidium cuniculus* ont présenté de l'anorexie et de la déshydratation associées à de la diarrhée durant 3 à 5 jours [31].

2.1.7. Diagnostic

2.1.7.1. Diagnostic épidémiologique et clinique

Les signes cliniques et les critères épidémiologiques permettent de suspecter mais pas de confirmer la Cryptosporidiose. Les critères de suspicion sont l'apparition d'une diarrhée chez des animaux âgés de 5 à 21 jours, dont la prévalence augmente à mesure que la saison des mises-bas avance, et résistante aux traitements habituellement utilisés. Dans les élevages de type mixte, la sévérité de l'infection apparaît plus élevée chez les chevreaux que chez les agneaux [32].

2.1.7.2. Diagnostic de laboratoire

Les techniques de laboratoire permettent de mettre en évidence le parasite (d'oocystes de *Cryptosporidium sp.*) dans les fèces ou dans d'autres types de prélèvement supposés contaminés. Les niveaux d'excrétion d'oocystes sont très élevés lors de Cryptosporidiose clinique, il est donc facile de mettre en évidence leur présence [33].

2.1.7.3. Description macroscopique

Une description macroscopique des selles prélevées doit être réalisée en complément des autres examens. Elle permet ainsi d'apprécier la couleur, la consistance, et l'aspect des selles prélevées [34].

2.1.7.1.4. Description microscopique (Microscopie conventionnelle)

Les méthodes microscopiques permettent de détecter la présence d'oocystes dans les matières fécales prélevées. L'observation directe de l'échantillon au microscope est réalisable (Figure 9). 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 [17]. Les oocystes sont des structures rondes à ovalaires dont la taille varie selon l'espèce de cryptosporidies observée.

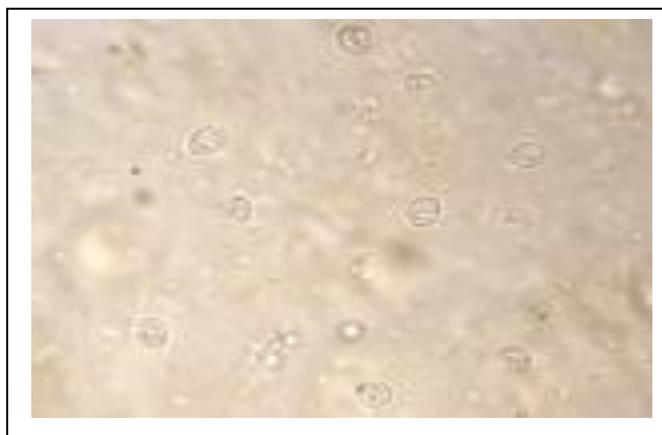


Figure 9 : Oocystes de *Cryptosporidium sp* en microscopie optique [35].

2.1.7.5. Méthodes de concentration

La concentration de l'échantillon est une étape préalable et indispensable lorsqu'une faible concentration d'oocystes est présente. Elle permet d'augmenter la sensibilité de détection des méthodes microscopiques et moléculaires. Les techniques les plus utilisées sont les méthodes de flottation. Ces dernières s'appuient sur la différence de densité entre le liquide et les éléments parasitaires. 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 [34]. 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 [17, 34]. 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 [34]. 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. Le liquide le plus employé pour la mise en évidence des oocystes de *Cryptosporidium sp.* est la solution de Sheather (ou solution de saccharose) [17].

2.1.7.6. Méthodes de coloration

Avant toute coloration, il est recommandé de fixer l'échantillon (frottis de matières fécales) à l'aide d'un fixateur de type formol à 10% ou de SAF (*Sodium Acetate – aceticacid – Formaldehyde*) [17]. De nombreuses techniques de coloration sont disponibles :

- ❖ **Coloration au saccharose** : La coloration au saccharose repose sur l'utilisation de la solution de Sheather. Elle permet de visualiser les oocystes qui apparaissent

réfringents et roses sur fond gris-orange. Un montage entre lame et lamelle est réalisé avec une goutte de saccharose et une goutte de matière fécale. La lecture doit être effectuée dans les 20 minutes pour éviter la baisse en intensité de la coloration et l'altération des oocystes. Cette technique a une bonne sensibilité et spécificité, elle est peu coûteuse, rapide et facilement réalisable, mais ne permet pas une conservation des lames [36].

- ❖ **Coloration de Heine** : Cette méthode repose sur l'emploi de fuchsine pour la mise en évidence des oocystes. Un montage entre lame et lamelle est effectué à quantité égale entre les matières fécales et le réactif. Les cryptosporidies ne sont pas colorées mais apparaissent réfringentes sur un fond rouge pendant une quinzaine de minutes. C'est une méthode simple, facile à mettre en œuvre et sensible. La détection des oocystes peut être améliorée par l'utilisation d'un microscope à contraste de phase [37].
- ❖ **Coloration à l'auramine-fuschinecarbolique** : C'est une technique de coloration par fluorescence qui s'effectue en deux temps. Le frottis est colore par l'auramine phénol puis recolorer par la fuchsine carbolique, sans étape de décoloration [37]. Les oocystes fluorescent sur un fond rouge-noir au microscope a fluorescence. Cette technique est rapide mais coûteuse et nécessite une coloration de contrôle. D'autres fluorochromes, tels que l'auramine-rhodamine peuvent également être utilisés, ils sont très sensibles mais demeurent coûteux [17].
- ❖ **Coloration de Ziehl-Neelsen modifiée** : C'est la technique la plus utilisée par les laboratoires. Elle comprend quatre étapes: Une étape de fixation, une de coloration, une autre de décoloration et une dernière de recoloration. Elle permet de visualiser les oocystes qui apparaissent rouges sur un fond vert. C'est une technique longue à mettre en œuvre, mais qui reste une méthode de référence dans la détection des oocystes de *Cryptosporidium sp.* C'est une méthode sensible et facile de lecture, permettant une conservation des lames [37].
- ❖ **Autres techniques** : 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 [28].

2.1.7.6. Méthodes immunologiques

Les techniques d'immuno-marquage permettent la mise en évidence des oocystes dans l'échantillon grâce à deux réactions immunologiques de type antigène-anticorps [28].

- ❖ **Immuno-fluorescence directe :** L'immunofluorescence directe est une technique de coloration utilisant des anticorps monoclonaux fluorescents dirigés contre les *Cryptosporidies* (FITC-C-mAB: fluorescein isothiocyanate-conjugated anti - *Cryptosporidium* monoclonal antibody).

Cette technique présente une bonne spécificité (96–100%) et une forte sensibilité (98,5– 100%). Elle est utilisée en routine dans les laboratoires [38]. C'est une méthode rapide et peu onéreuse, mais nécessitant un équipement spécialisé (utilisation d'un microscope à fluorescence) [37].

- ❖ **Immuno-chromatographie:** Plusieurs tests immuno-chromatographiques rapides sont disponibles pour le vétérinaire praticien. Ils peuvent détecter les antigènes d'un agent pathogène seul, tel que *Cryptosporidium sp*, ou en détecter plusieurs simultanément. Les anticorps monoclonaux sont dirigés contre des protéines spécifiques de la paroi des oocystes. Ils sont généralement liés à un composé colloïdal ou à des billes de latex afin de produire un signal visuel [37]. Ces tests se présentent sous forme de tiges ou de plaquettes. La spécificité de ces tests est généralement de 93% pour une sensibilité de 78%.

- ❖ **ELISA :** La technique ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) repose sur la détection des antigènes de surface des oocystes de *Cryptosporidium sp*. Ce test est intéressant pour mettre en évidence des oocystes de *Cryptosporidium* présents en faible quantité parmi un nombre important de débris [17]. Cependant, des réactions croisées sont possibles entre les anticorps et d'autres microorganismes révélant un manque de spécificité de ces méthodes [28].

2.1.7.7. Diagnostic de biologie moléculaire

- ❖ **Marqueurs génétiques :** Les techniques moléculaires actuelles se basent principalement sur la petite sous-unité *SSU* d'ARN ribosomal pour la détection du genre *Cryptosporidium sp*. La présence de séquences hautement conservées intraspécifiques et de séquences interspécifiques hautement variables et le nombre élevé de copies au sein des oocystes en font une cible de choix [39].

- ❖ **L'hybridation in situ en fluorescence** : L'hybridation in situ en fluorescence (*FISH: Fluorescent in situ hybridization*) repose sur l'hybridation d'une séquence cible d'ARN ou d'ADN avec des oligo-nucléotides marqués par fluorescence. La séquence cible choisie pour la détection de *Cryptosporidium sp.* est une région variable de la séquence de la petite sous-unité ribosomale. En principe seul les oocystes viables sont détectés, l'ARN se dégradant dans les oocystes non viables. Cette théorie est actuellement très controversée [38].

- ❖ **Réaction de Polymérisation en Chaîne (PCR)** : De nombreuses méthodes basées sur la PCR (*Polymerase Chain Reaction*) sont utilisées pour la détection et la caractérisation des espèces de *Cryptosporidium sp.* Les principales sont l'amplification aléatoire d'AND polymorphe (*RAPD: Random Amplification of Polymorphic DNA*), le polymorphisme de longueur de fragment amplifié (*AFLP: Amplified Fragment Length Polymorphism*), la PCR associée au polymorphisme de longueur des fragments de restriction (*RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism*), et la PCR en temps réel. La PCR-RFLP est la méthode la plus utilisée dans la détection et la caractérisation de *Cryptosporidium sp.* [38].

2.1.7.8. Cytométrie de flux

La cytométrie de flux se définit comme l'étude précise de cellules isolées entrainées par un flux liquide. L'analyse de signaux optiques ou physiques émis par les particules coupant le faisceau lumineux d'un laser permet une caractérisation individuelle, qualitative 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 [38]. Les techniques de cytométrie de flux et de tri cellulaire auraient une meilleure sensibilité que les techniques de microscopie conventionnelle [17].

2.1.7.9. Diagnostic histologique

L'infection 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 [40]. Cependant, ces lésions, non pathognomoniques, 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. 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. 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 [17].

2.1.8. Traitement

A ce jour aucun médicament ne s'est montré efficace contre la *cryptosporidiose* aussi bien chez l'homme que chez l'animal, cela s'explique par la double membrane recouvrant le parasite, qui le protège des médicaments libres dans l'intestin. L'efficacité d'environ 200 molécules a été testée vis-à-vis de *Cryptosporidium spp* toutes espèces hôtes confondues et jusqu'à présent, la plupart se sont révélées être inefficaces. Comme nous le verrons par la suite, certaines substances parviendraient à réduire la multiplication du parasite mais à des doses toxiques. De même, quelques substances actives chez l'animal restent sans résultats concluants chez l'homme.

❖ Traitement spécifique

Plus d'une centaine de molécules ont été essayées sur des modèles animaux et peu ont montré une efficacité clinique probante [41]. Ils 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 [42], si l'antibiotique franchit la barrière digestive, à la faveur d'ulcères par exemple. 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 [43].

La paromomycine a été utilisée chez un petit nombre de chiens atteints de cryptosporidiose. Son administration enrayer l'excrétion d'oocystes en 5 jours [44]. 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.

❖ **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 [40, 45, 46]:

- Séparation des animaux selon les classes d'âges.
- Limitation des contacts entre le personnel de l'élevage et les jeunes.
- Eviter l'introduction d'animaux dont le statut sanitaire est inconnu.
- Le bâtiment d'élevage doit être situé loin des cours d'eaux.
- Isolement et traitement des animaux malades et élimination des cadavres.
- Nettoyage et désinfection quotidien des équipements et locaux contaminés.

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

1. Objectifs

Nous avons réalisé cette étude dont le but est de rechercher les oocystes du *cryptosporidium* prélevés à partir des fèces des lapins, en utilisant une méthode conventionnelle de coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz en 1981. Pour cela, nous nous sommes fixés les objectifs suivants :

- La détermination de la prévalence de la cryptosporidiose à partir des prélèvements de fèces chez le lapin.
- L'évaluation de l'effet du sexe et de l'âge sur la présence des cryptosporidies.

2. Matériel et méthodes

2.1. Lieu et durée de l'expérimentation

Les travaux expérimentaux ont été conduits au sein des élevages cynicoles de la station expérimentale de l'université de Blida 1 (Figure 10). Ainsi qu'au niveau du laboratoire de parasitologie de l'Ecole National Supérieur Vétérinaire à Alger (Figure 11). La période d'expérimentation s'est étendue du début du mois de Mai jusqu'à la fin du mois de juin 2024.



Figure 10: Station expérimentale de l'université de Blida 1



Figure 11 : Laboratoire de parasitologie (ENSV)

2.2. Logement des animaux

L'hébergement des lapins mâles se fait dans des cages individuelles de dimensions de 70 cm de longueur, 40 cm de largeur et 30 cm de hauteur (Figure 12).

Chaque cage est pourvue d'une mangeoire individuelle et d'un système d'abreuvement à tétine.



Figure 12 : Cages individuels

2.3. Matériel

2.3.1. Matériel biologique (Animaux)

Cette étude a porté sur des lapins (n : 20), appartenant à l'espèce *Oryctolagus Cuniculus* de pelages variés et ils ne présentant aucun signe clinique (Animaux cliniquement sain) (Figure 13).



Figure 13 : Lapin *Oryctolagus Cuniculus*

2.3.2. Matériels de laboratoire et instruments

Tous le matériel utilisé lors de l'expérimentation est présenté dans l'Annexe A.

2.4. Méthodes

2.4.1. Protocole de prélèvement

Au total, 20 prélèvements de fèces de lapins ont fait l'objet de la recherche des oocystes de *Cryptosporidium*. Les prélèvements ont été récoltés dans des tubes secs

identifiés (Figure 14) et transportés dans une glacière à 4°C vers le laboratoire de parasitologie de l'ENSV d'Alger pour être analysés selon le protocole suivant (Figure 15) :

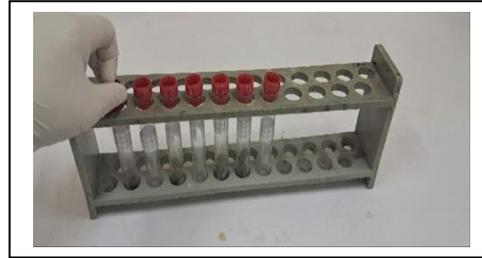


Figure 14 : Tubes secs identifiés

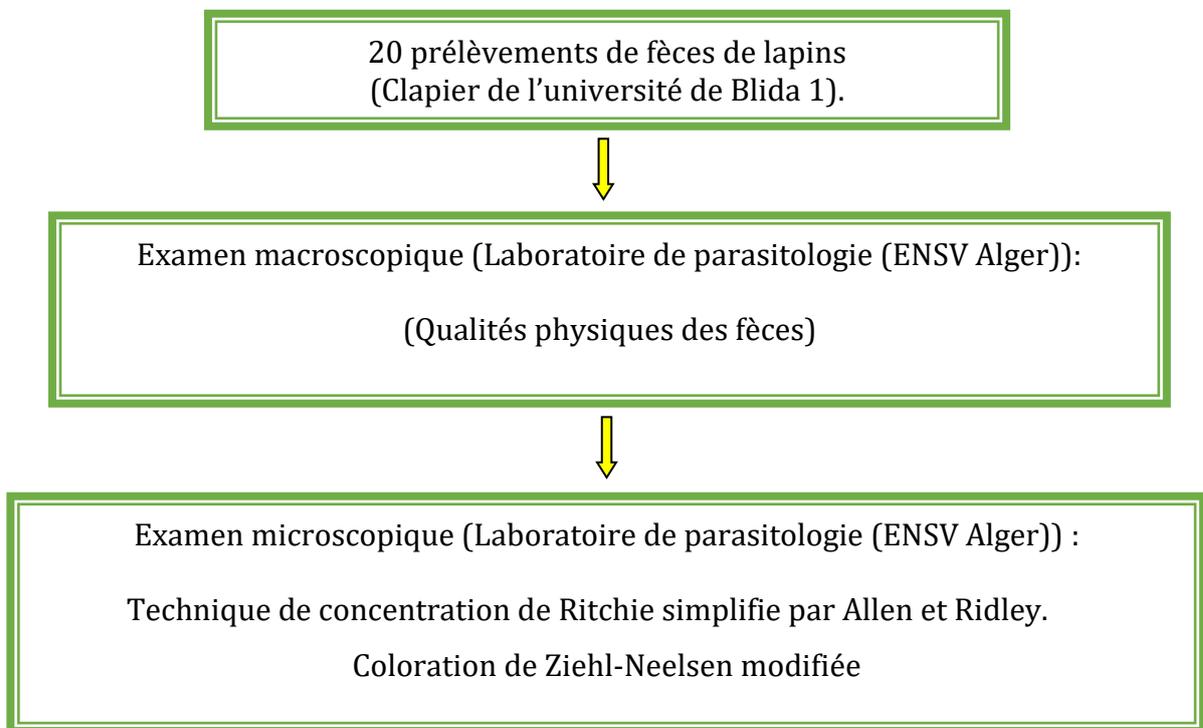


Figure 15: Protocole de prélèvement et de la recherche des oocystes de *Cryptosporidium*.

2.4.2. Méthodes utilisées au laboratoire

2.4.2.1. Examen macroscopique

Les excréments des lapins récupérés de cet élevage ont subis dans un premier lieu un examen macroscopique. Il permet d'avoir une appréciation des qualités physiques des fèces, ou nous avons pu noter pour chaque échantillon : consistance, aspect, couleur, et la présence de mucus.

2.4.2.2. Examen microscopique

2.4.2.2.1. Technique utilisée pour la mise en évidence des cryptosporidies

Pour la recherche des oocystes dans les fèces du lapin, nous avons utilisé la technique de coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz (1981). Qui est précédée par la technique de concentration de Ritchie simplifiée par Allen et Ridley [47].

❖ Principe et mode opératoire de la technique de concentration de Ritchie simplifiée par Allen et Ridley.

Cette technique est réalisée systématiquement afin de concentrer un maximum de d'éléments parasitaires et de résidus dans un petit volume de matière fécale (MF). C'est une méthode diphasique (physico-chimique) qui met en jeu la balance hydrophile -lipophile du parasite. Elle dérive de celle décrite par Telemann (1908), qui diluait les selles dans un mélange égal d'éther et d'acide chlorhydrique [48].

Les différentes étapes de cette technique sont comme suit :

- A partir de chaque échantillon de fèces collectées, nous avons prélevé et peser 3g de selles (Figure 16, 17).



Figure 16 : Prélèvement de l'échantillon



Figure 17 : Pesé du prélèvement (3g)

- L'échantillon est dilué dans un volume de formol à 10%, 10 fois supérieur à celui des selles (30ml) (Figure 18). Les fèces diluées sont placées dans des tubes gradués et soumis à une homogénéisation (30 secondes), en utilisant un agitateur (vortex) (Figure 19). Les sédiments lourds (comme les cellules mortes et les

débris) se déposent au fond du tube, tandis que les oocystes et autres particules plus légères restent dans le surnageant.

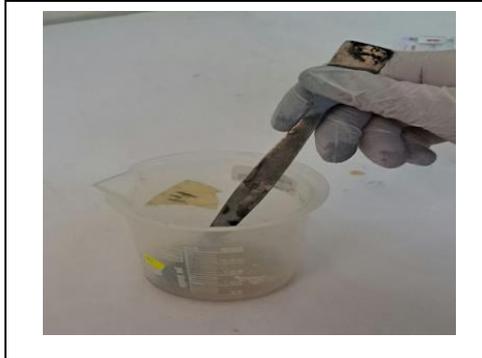


Figure 18 : Dilution du prélèvement avec du formol à 10 %



Figure 19 : Homogénéisation du prélèvement

- Par la suite, le mélange est filtré à l'aide de tamis fins dans un autre bécher, pour retirer les gros débris (fibres, particules alimentaires, etc.) (Figure 20). Cela permet d'éliminer les éléments qui pourraient interférer avec les étapes suivantes. Le contenu obtenu est déposé dans un tube gradué et laisser décanter 1 à 2 min (Figure 21).

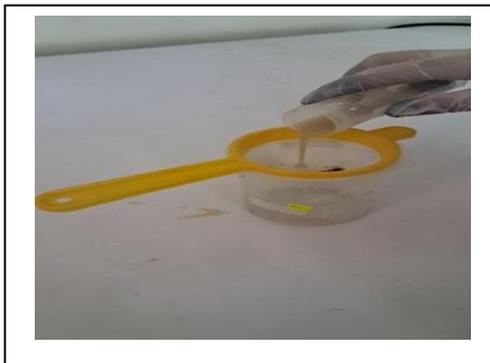


Figure 20 : Filtration du prélèvement



Figure 21 : Décantage du contenu filtré

- Aspirer à l'aide d'une pipette pasteur une partie du surnageant (8ml) et verser le dans un tube conique, l'équivalent de 2/3 du volume total à émulsionner (Figure 22). Ajouter par la suite, un volume d'éther correspondant à 1/3 du volume décanté (Figure 23). Fermer le tube en laissant un espace vide d'environ 1cm.

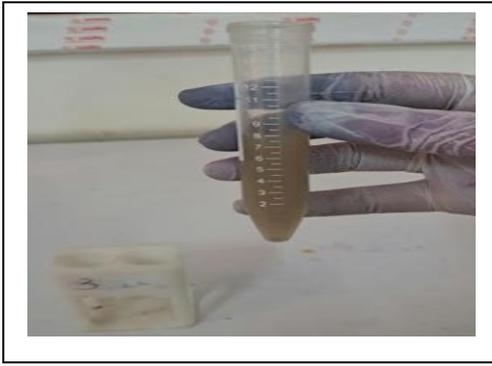


Figure 22 : Séparation du surnageant



Figure 23 : Addition de l'éther

- Agiter énergiquement le tube avec la main afin d'obtenir un liquide homogène.
- Centrifuger le tube à 2500 tours/min, pendant 3 min (Figure 24).
- Jeter le surnageant (Figure 25) et garder le culot (Figure 26).



Figure 24 : Centrifugation du liquide homogène



Figure 25 : Elimination du surnageant



Figure 26 : Culot restant

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

C'est la technique de coloration de référence utilisée pour l'identification des cryptosporidies. Cette technique est 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 fuschine après traitements par un alcool ou un acide. Les parasites apparaissent en rouges malgré l'utilisation du bleu de méthylène [49]. Ces propriétés de coloration sont expliquées par la structure de la paroi cellulaire, notamment par sa richesse en acide mycolique qui retienne la fuschine; 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 [50].

Les différentes étapes de la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz en 1981 sont comme suit :

- Préparer un frottis à partir du culot : prélever une goutte du culot à l'aide d'une pipette pasteur (Figure 27 (A)) et la déposer au bord d'une lame (Figure 27 (B)), puis réaliser un frottis à l'aide d'une autre lame (Figure 27 (C)). Ce frottis confectionné est séché à l'air libre.

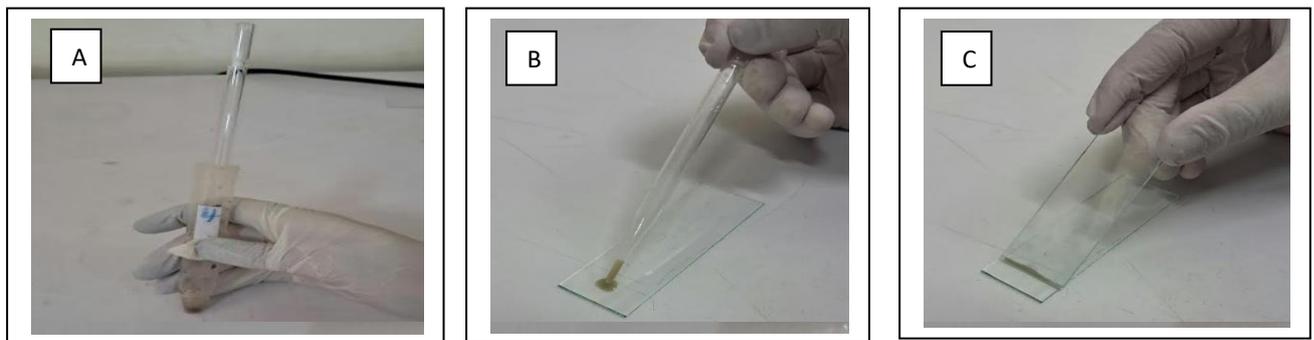


Figure 27: Préparation du frottis (A : Prélèvement du culot ; B : dépôt du culot sur la lame ; C : réalisation du frottis)

- Fixer le frottis avec le méthanol pur pendant 5 min dans une boîte de pétrie (Figure 28) puis le laisser sécher à l'air libre. La lame est prête pour la coloration.



Figure 28: Fixation avec le méthanol

- Colorer le frottis dans la solution de la fuchsine phéniquée pendant une heure (Figure 29). Rincer à l'eau du robinet (Figure 30).



Figure 29: Coloration avec la fuchsine Phéniquée



Figure 30: Rinçage à l'eau

- Différencier dans de l'acide sulfurique à 2% pendant 20 secondes (Figure 31). Pour décolorer et éliminer les débris et les autres micro-organismes. Suivis par un rinçage avec l'eau de robinet.



Figure 31: Différenciation avec l'acide sulfurique à 2%.

- Contre-colorer avec du vert de malachite à 5% pendant 5 minutes (Figure 32). Tout est coloré en vert sauf les cryptosporidies qui gardent la couleur rouge. Rincer à l'eau du robinet (Figure 33) et laisser sécher à l'air (Figure 34).

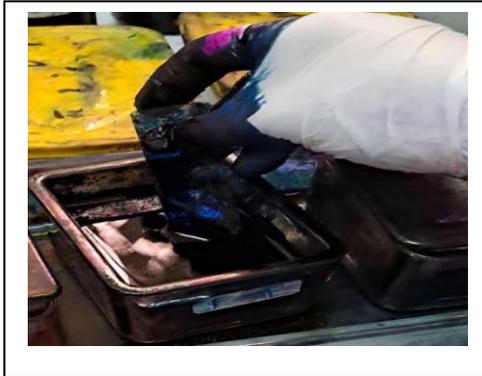


Figure 32: Contre coloration avec le vert de malachite à 5%



Figure 33: Deuxième rinçage



Figure 34: Séchage à l'air

❖ Lecture et interprétation

La lecture se fait au microscope optique à l'objectif (G x 100) à immersion. Toute la surface de la lame est balayée de gauche à droite et de haut en bas (Figure 35).



Figure 35: Observation au microscope optique (G x 100)

Les oocystes de *Cryptosporidium* sont rouge vif, parfois rose sur un fond vert. Les oocystes sont des éléments ronds à ovoïdes de 4-6 μ m de diamètre à paroi épaisse. Dans le cytoplasme, il ya une zone centrale ou latérale plus claire, non colorée (corps résiduel) et au centre ou périphérie, des granulations noirâtres au nombre de quatre, correspondant aux sporozoites, colorés en rouge vif, le corps résiduel apparait plus foncé (Figure 36).



Figure 36: *Cryptosporidium* après coloration de Ziehl-Neelsen modifiée (G x 100)

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 [51]:

- 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.

❖ **Analyses statistiques**

Le traitement des données a été restreint à une analyse statistique descriptive sans réalisation de tests statistiques.

Résultats et discussion

3. Résultats

Dans cette section, nous présenterons les résultats obtenus après l'analyse des excréments du lapin (*Oryctolagus cuniculus*) par les techniques parasitologiques.

3.1. Résultats obtenus par l'examen macroscopique des crottes

Les excréments ont subis dans un premier lieu un examen macroscopique. Les caractéristiques physiques des fèces des lapins récupérés de cet élevage sont mentionnées dans le tableau 2.

Tableau 2 : Caractéristiques physiques des excréments chez les lapins

Prélèvement	Consistance	Couleur	Mucus	Aspect
Matière fécale	Dure/molle	Marron foncé/clair	-	Rond

L'examen macroscopique des crottes montre que les crottes prélevées sont d'aspect rond, de couleur marron foncé ou clair, de consistance dure ou molle avec absence de mucus.

L'absence de mucus est un signe de l'absence d'infestation des parasites intestinaux, come les vers et les coccidies, ou l'infection bactérienne dans le système gastro-intestinal. L'aspect rond observé des crottes est lié au régime alimentaire qui est rationnel.

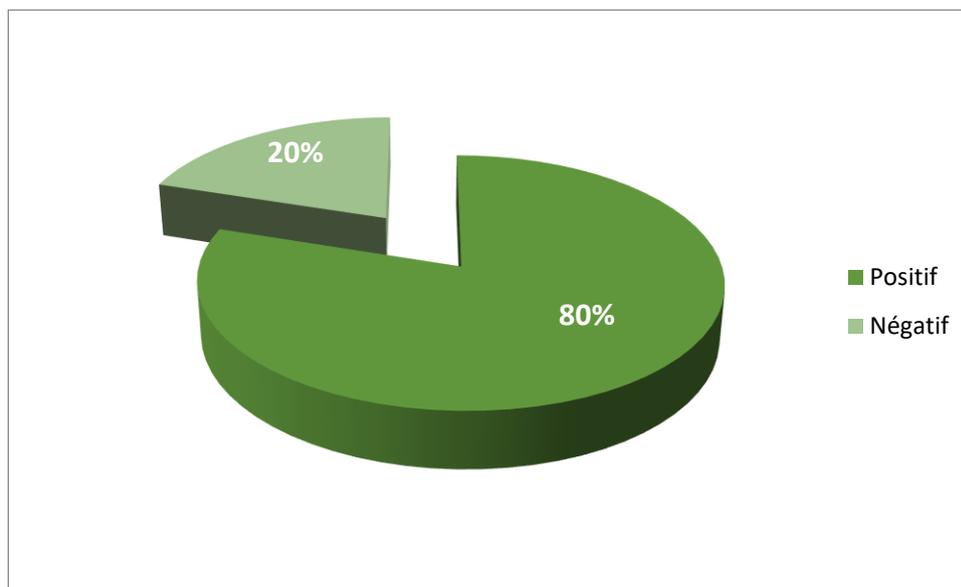
3.2. Résultats de l'examen microscopique

3.2.1. Prévalence du cryptosporidiose dans la ferme expérimentale

Sur les 20 prélèvements de matières fécales analysés, 16 sont positifs, soit une prévalence de 80 % (Tableau 03 et Figure 37).

Tableau 03: Prévalence globale du cryptosporidiose chez le lapin.

Prélèvement	Nombre de prélèvements	Nombre de positif	Prévalence (%)
Matière fécale	20	16	80

**Figure 37:** Prévalence globale du cryptosporidiose chez le lapin.

3.2.2. Prévalence de cryptosporidiose en fonction du sexe

Sur les 10 sujets mâles prélevés, 10 sont positif aux cryptosporidies, soit une prévalence de 100 %. De même sur les 10 sujets femelle examinées, 06 sont positifs, représentant une prévalence de 60 % (Tableau 04 et Figure 38).

Tableau 04: Prévalence de la cryptosporidiose selon le sexe des lapins.

Sexe	Nombre de prélèvements	Nombre de positif	Prévalence (%)
Mâles	10	10	100
Femelles	10	06	60

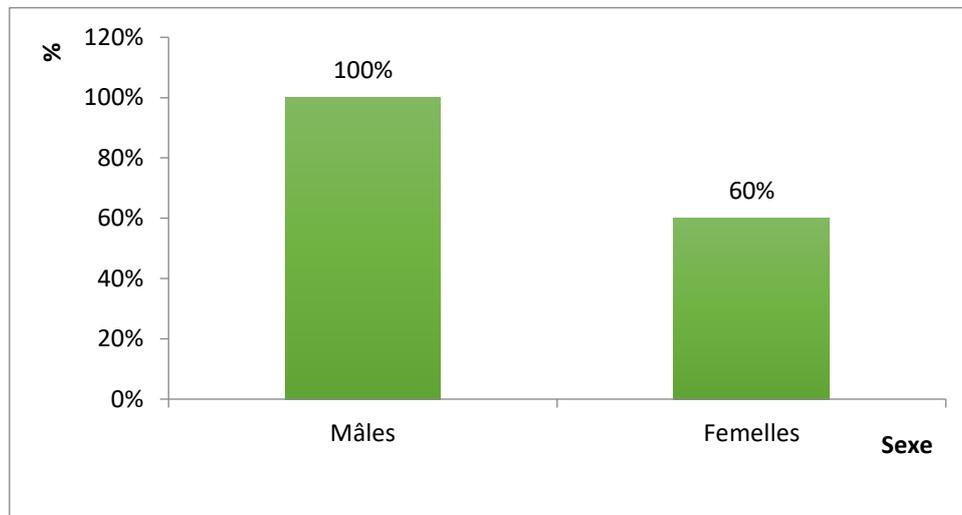


Figure 38: Prévalence de la cryptosporidiose selon le sexe des lapins.

3.2.3. Prévalence de *Cryptosporidium* en fonction de l'âge

Sur les 16 sujets adultes prélevés, 12 sont positifs aux cryptosporidies, soit une prévalence de 75 %. De même sur les 04 sujets jeunes examinées, 03 sont positifs, représentant une prévalence de 75 % (Tableau 05 et Figure 39).

Tableau 05: Prévalence de la cryptosporidiose selon la catégorie d'âge des lapins.

Catégorie d'âge	Nombre de prélèvements	Nombre de positif	Prévalence (%)
Adulte (12-24 mois)	16	12	75
Jeune (3-6 mois)	04	03	75

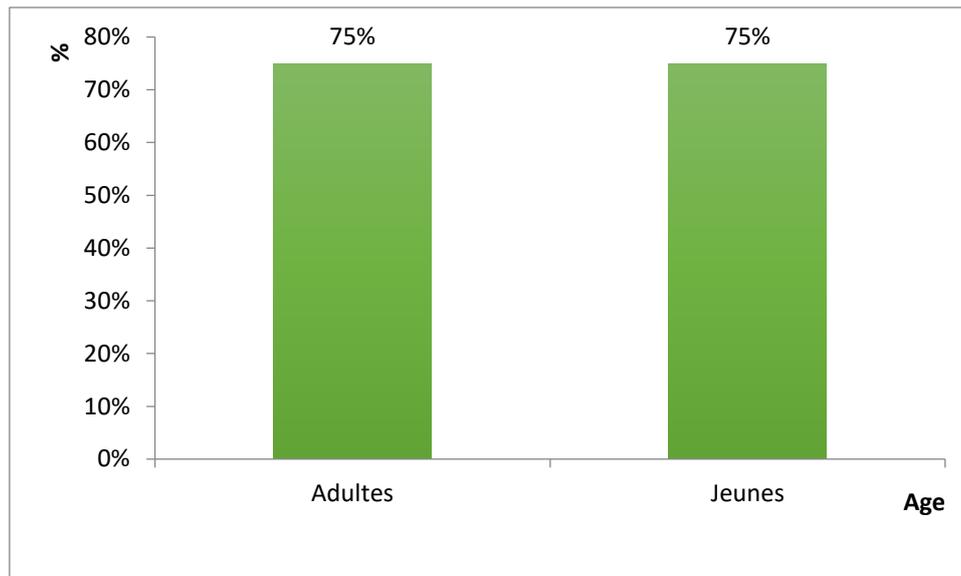


Figure 39: Prévalence de la cryptosporidiose selon la catégorie d'âge des lapins.

3.2.4. Intensité de l'infestation du parasite

La distribution de l'intensité de l'infestation du parasite montre que 13 lapins expriment souvent une faible infestation (+1), soit 81,25%. Par contre, 3 lapins expriment infestation moyenne (+2), soit 18,75% (Tableau 06).

Tableau 06: Distribution de l'intensité de l'infestation du parasite

Nombre de prélèvements	Nombre de positif	Prévalence (%)	Faiblement infesté (+1)	Moyennement Infesté (+2)	Fortement Infesté (+3)
20	16	80	13 (81,25%)	03 (18,75%)	0 (0%)

4. Discussion

D'après notre expérimentation menée sur la cryptosporidies chez le lapin, nous avons constaté la contamination de 80% des prélèvements prospectés par des *Cryptosporidium* avec une infestation faible (81,25%) à moyenne (18,75%).

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 une très grande résistance du parasite dans l'environnement. Le parasitisme serait maintenu par la présence de sujet infesté, porteur asymptomatique, constituant un véritable réservoir du fait de l'excrétion cyclique qui s'accroîtrait. De même, la particularité de la physiologie digestive des lagomorphes (coecotrophe) serait un facteur déterminant à étudier et à considérer lors d'études ultérieures.

La prévalence enregistrée par Mezali et *al.* [9] sur 102 prélèvements de matières fécales chez le lapin élevé dans la ferme expérimentale de l'Institut Technique des Élevages de Baba Ali, a révélé la contamination de tous les échantillons prélevés soit 100%.

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 [52], aucun des 232 prélèvements réalisés en Allemagne n'ait positifs alors que 0,9% des 109 prélèvements examinés au royaume UNI étaient positifs au *Cryptosporidies* [53, 54]. En Roumanie, un résultat négatif est obtenu suite aux analyses coprologiques effectuées sur 33 lapins bien que des enquêtes antérieures ont révélé des prévalences allant de 16 à 50% [55]. En Australie, *Cryptosporidium* a été détecté chez 12 lapins soit une prévalence de 6,8% sur 176 prélèvements individuels de matières fécales [56].

En outre, nous avons remarqué d'après nos résultats obtenus que les lapins mâles sont plus contaminés (100%) que les femelles (60%). Nos résultats sont proches de ceux rapportés par Mézali et *al.* [9]. Le rôle du facteur sexe n'apparaît pas dans les études étrangères [14, 57].

Concernant la fréquence d'isolement de *Cryptosporidium* chez les jeunes et les adultes, les résultats obtenus, 75% pour chacun, sont similaires. Par conséquent, nos résultats viennent appuyer le fait que la cryptosporidiose est une maladie qui touche aussi bien les jeunes et les animaux adultes. Malgré que les lapereaux sont plus sensibles à l'infection parasitaire que les adultes.

Cependant, la méthode utilisée ne peut pas déterminer les espèces de cryptosporidies. Au Royaume-Uni, les méthodes moléculaires ont permis d'identifier des génotypes de *Cryptosporidium sp* isolés des lapins identiques à ceux caractérisés chez des patients humains présentant des symptômes de cryptosporidiose et connus depuis sous l'appellation de *C. cuniculus* [56]. Par conséquent, il serait plus prudent à l'heure actuelle de ne pas écarter le rôle du lapin lors de zoonoses à *Cryptosporidium sp*.

Conclusion

La cryptosporidiose est une maladie causée par un parasite protozoaire du genre *Cryptosporidium* qui affecte de très nombreuses espèces du règne animal dont le lapin. Ces parasitoses digestives représentent un frein au développement de la filière cunicole dans notre pays.

Notre étude réalisée au niveau du bâtiment cunicole, a révélé que la prévalence de la cryptosporidiose chez le lapin est élevée (80%). Avec une infestation faible (+1 : 81,25%) à moyenne (+2 : 18,75%). Touchant aussi bien les jeunes que les lapins adultes (75%). Cependant les mâles (100%) sont plus touchés que les femelles (60%).

La multiplication et l'excrétion des parasites dépend de plusieurs facteurs, mais l'influence du milieu d'élevage et l'environnement restent le plus important, parmi ces facteurs l'hygiène est une mesure nécessaire pour le maintien du faible taux d'infection.

Toutefois, pour réduire la prévalence de cette pathologie en élevage cunicole, des mesures de lutte adéquates doivent être entreprises.

- Instaurer un dépistage systématique de *Cryptosporidium* aussi bien dans les cas pathologiques que lors d'examens 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.
- Appliquer les règles d'hygiène au personnel en contact avec les lapins.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

1. Lebas, F. et Colin, M. (1992). World rabbit production and research: situation in Fifth World Rabbit Congress, Vol. A, p. 29-54.
2. Ziki, B., Moulla, F., &Yakhlef, H., 2008. Essais d'évaluation A performances de croissance et du rendement à l'abattage du lapin local. La Revue Périodique Recherche Agronomique, N°19, INRAA.
3. Saidj, D., Aliouat, S., Arabi, F., Kirouani, S., Merzem, K., Merzoud, S., &Baziz, H. A., (2013). La cuniculture fermière en Algérie : une source de viande non Négligeable pour les familles rurales. Livestock Research for Rural Development 25 (8).
4. Farsi, R., (2016). Caractérisation comparative sur les aspects physicochimiques et sensoriels de la viande cunicole et avicole. Thèse magister : sciences agronomiques. Tlemcen : Université Abou BekrBlkaid, 50p.
5. Marlier, D., Dewree, R., Delleur, V., Licois, D., Lassence, C., Poulipoulis, A., et Vindevogel, H., (2003). Description des principales étiologies des maladies digestives chez le lapin européen (*Oryctolagus cuniculus*). Ann. Méd. Vét147 : 385-392.
6. Henneb, M., et Aissi, M., (2013). Etude cinétique de l'excrétion oocystale chez la lapine et sa descendance et identification des différentes espèces de coccidies. 15ème journée de la recherche cunicole, 19-20 Novembre. Le Mans, France. 221-224.
7. Current, W. (1991). Cryptosporidiosis. Clin Microbiol. Rev. 4(3)325-58.
8. Burgaud., A. (2010). Pathologie digestive du lapin en élevage rationnel. Thèse de doctorat vétérinaire. 30-31.
9. Mezali, L., Mebkhout, F., Saidj, D.,Merah, S., Razali, H., Larbi, B., Abdessalem, L. (2015). Premières données sur la cryptosporidiose chez l'espèce *Oryctolagus cuniculus domesticus* en Algérie. 16èmes Journées de la Recherche Cunicole, 24 et 25 novembre. Le Mans, France.
10. Fayer, R., Xiao, L. (2007). *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis. second ed. CRC Press, Boca Raton.

11. Clementine *et al.*, (2015)
12. Tyzzer, E., (1907). *Asporozoan* found in the peptic glands of the common mouse. 5,12-13.
13. Triffitt. M.J., (1925). Observation on two species of coccidian parasite in snacks. J. Protozool. vol, 1, p 19-26.
14. Akam, A. Lafri, M., Khelef, D., Kaidi, R., Bouchene, Z., Cozma, V., Suteu E. (2007). Cryptosporidiose bovine dans la région de la Mitidja (Algérie). Bulletin USAMV-CN, 64 : 344-350.
15. Certad, G. (2008). La caractérisation génétique et phénotypique de *Cryptosporidium (Alveolata: Apicomplexa)* à la mise en évidence du rôle de *C.parvum*.
16. Tzipori, S et Griffiths, J K (1998). Natural history and biology of *Cryptosporidium parvum* Advances in parasitology. 40, 5-35.
17. O'Donoghue., P J. (1995).. *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis in man and animals. International journal for parasitology. Vol 25 N° 1, p 139-195.
18. Fayer, R., (2004). *Cryptosporidium*: A water-borne zoonotic parasite. Veterinary parasitology. 126: 37-56.
19. Hijjawi, N. and Olson, M., (2004). Complete development of *Cryptosporidium parvum* in host cell free culture. Int. J. Parasitol, 34, 769-777.
20. Chalmers et Davies. (2010), *Cryptosporidium* Pathogenicity and Virulence. Clin Microbiol Rev. 2013. 26(1). 115-34.
21. Valigurova, A., Jirku, M., Koudela, B., Gelnar, M., Modry D., Slapeta., J. (2008). Cryptosporidia extracellular parasites embraced by the host cell membrane. Int Journal parasitol. 23. 913- 922.
22. Korean journal of parasitology (KJP)
23. AFSSA, (2002). Rapport sur les infections à protozoaires liées aux aliments et à l'eau : Evaluation scientifique des risques associés à *Cryptosporidium sp.*
24. King, Monis PT (2006). Critical processes affecting *Cryptosporidium* oocyst survival in the environment. Parasitology, 134, 309-323.
25. Jenkins, MB., Eaglesham, BS., Anthony, LC., Kachlany, SC., Bowman, DD., Ghiorse, WC., (2010). Significance of Wall Structure, Macromolecular Composition, and Surface

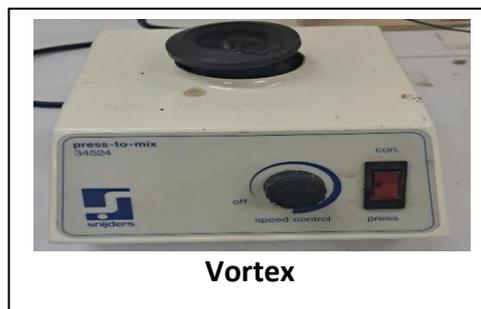
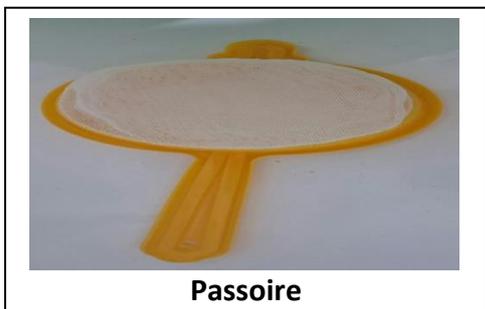
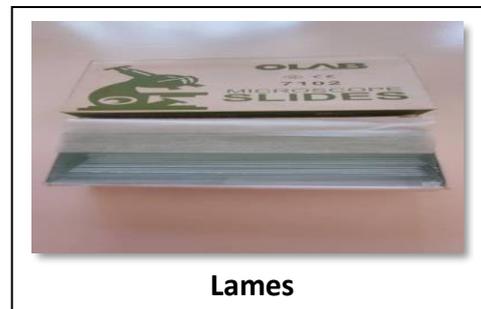
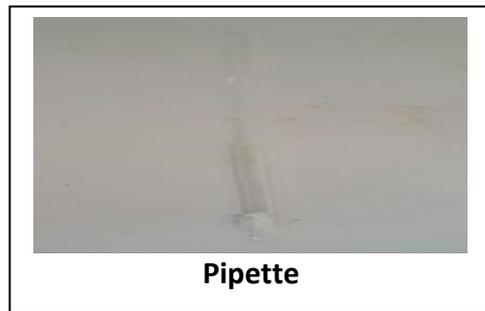
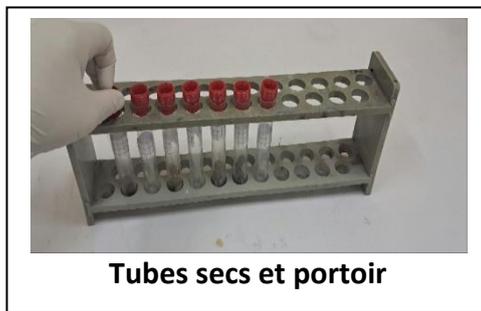
- Polymers to the Survival and Transport of *Cryptosporidium parvum* Oocysts. Appl. Environ. Microbiol., 76, 1926-1934.
26. Fayer, R., (1990). General biology of *Cryptosporidium*..1-30.
27. Derouin, F., Pouillot, R., et Rose, S. (2002), Rapport sur " les infections à protozoaires liées aux aliments et à l'eau" : " Evaluation scientifique des risques associées à *Cryptosporidium spp*".
28. Fayer, R., Morgan, U et Upton, S (2000). Epidemiology of cryptosporidium transmission, detection.
29. Goucem, R., (2013). Prévalence de l'infection à *Cryptosporidium spp*. Dans quelques élevages de poulets de chair et de dindes dans les régions de Boumerdès et Alger. 39.
30. Schoeb, TR., Cartner, SC., Baker RA., Gerrity LW. (2007). Parasites of Rabbit. In : Baker DG. F lynn's parasites of laboratory animals. 2nd edition. Ames: Wiley-Balackwell, 452-499.
31. Pavlasek, I., Lavicka, M., Tumova, E., Skrivan, M. (1996). Natural *Cryptosporidium* infection in rabbit after weaning. Vet.Med. 12, 361-366.
32. Paraud, C., Chartier, C. (2012). Cryptosporidiosis in small ruminants. Small Ruminant Res., 103, 93-97.
33. Gargala, G. (2013). La cryptosporidiose en France: une cause méconnue de diarrhée aiguë. In: Microbiologie clinique 2013[enligne]. Paris. 27 septembre 2013.
34. Wyatt, CR., Riggs, MW., Fayer, R. (2010). Cryptosporidiosis in neonatal calves. Vet. Clin. Food Anim., 26, 89-103.
35. Drotman, 2010 Cryptosporidiose in Nevada <https://leg.state.nv.us/NRS/NRS-441A.html>
36. Chartier, C., Mallereau Pellet mp., Mancassola, R., Nussbaum, D, (2002). Détection de ookyste de *Cryptosporidium* dans les fèces de caprins. Comparaison entre un test de d'agglutination au latex et trois autres techniques conventionnelles. Veterinary research. 33, 2. 169-177.
37. Chanudet, 2012 comparaisons de différentes colorations pour la mise en évidence des protozoaires dans la coproscopie des ruminants. Thèse de doctorat vétérinaire. Lyon :Université Claude Bernard, 172p.

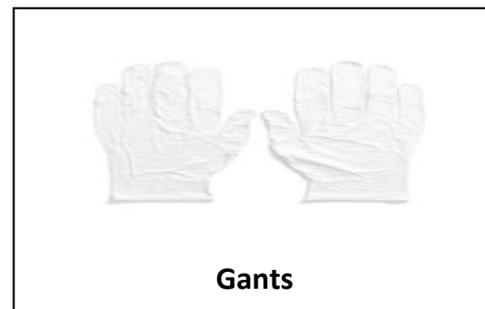
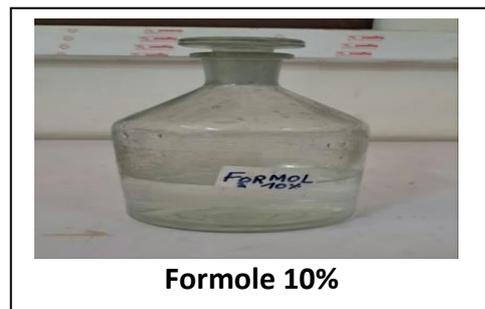
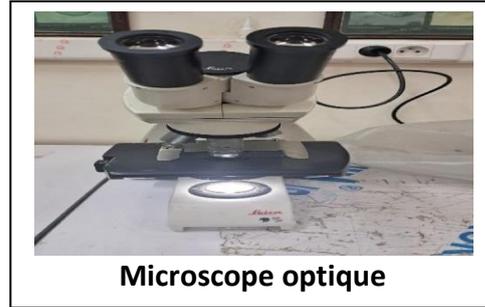
38. Jex, AR., Smith, HV., Monis, PT., Campbell, BE., Gasser, RB. (2008). *Cryptosporidium*-Biotechnological advances in the detection, diagnosis and analysis of genetic variation. *Biotech. Adv.*, 26, 304-317.
39. The ANOFEL *Cryptosporidium* National Network (2010).
40. De Graag, DC., Vanopdenbosch, E., Ortega*Mora L M., Abbassi, H et Pzzters, J E A (1999). Review of the importance of Cryptosporidiose in farm animals. *International Journal of Parasitology*, 29, 1269-1287.
41. Soaver., B.B.L.E., (1997). Prophylaxis and chemotherapy: human and animal. In: *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis, 1st Ed. CRC press: p.111-128.
42. Gookinj, L.R.J.E., Gilgerb, C., Papichm, G., (1999). Acute renal failure in four cats treated with paromomycin. *J. Am. Vet Med. Assoc.* 215:1806:p.1821-1823.
43. Greenece, JG. et Prickett D., (1990). Intestinal mal absorption and cryptosporidiosis in an adult dog. *J. m. Vet. Med. Assoc.*197:p. 365-367.
44. Barrs. C.G.W.G., Jamroszg, F. et al., (1994) Paromomycin for the treatment of *Cryptosporidium* in dogs and cats. *J. Vet. Int. Med.*, 8:p.177.
45. Saini, PK., Ransom, G., Mc Namara, AM. (2000). Emerging public health concerns regarding cryptosporidiose. *J. Am. Med. Assoc.*, 217 (5), 658-663.
46. Ramirez, NE., Ward, LA., Sreevatsan, S. (2004). A review of the biology and epidemiology of cryptosporidiose in humans and animals, *Microbes infect.*, 6, 773-785.
47. Gati, AE (1992). La cryptosporidiose : diagnostique parasitologique, infections naturelle chez onze espèces animales et chez l'homme et étude des effets de l'immunostimulation expérimentales chez le lapereau. Thèse doctorat 3ème cycle. Option parasitologie. P 1-82.
48. Mosele, D., (1998). Les cryptosporidioses aviaires : synthèse bibliographique. Thèse de doctorat vétérinaire. ENV-Alfort, 1-89.
49. Harp, JA. et Goff, JP. (1995). Protection of calves with a vaccines against *Cryptosporidium parvum* .*The journal of parasitology*. 81, (1), 54-57.
50. Harp, JA. et Goff, JP. (1998). Stratégie for the control of *Cryptosporidium parvum* infection in calves, *Journal of dairy science*. 81, (1), 289-294.
51. Ouakli, N. (2011). Prévalence de la cryptosporidiose chez le veau et les acteurs de risque dans la wilaya de Blida. Mémoire de magister. p 95.

52. Epe, C., Coati, N. et Schnieder, T., (2004). Results of parasitological examinations of faecal samples from horses, ruminants, pigs, dogs, cats, hedgehogs and rabbits between 1998 and 2002. *Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.* 111 :243-247.
53. Chalmers, RM., (1996). The distribution of *Cryptosporidium* in livestock and wild animal populations on a Warwickshire farm. Coventry University, Coventry.
54. Chalmers, RM., Sturdee, AP., Bull, SA et Miller, A., (1996). Rodent reservoirs of *Cryptosporidium*. In: Betts, WB., Casemore D., Fricker C., Smith H., Watkins J. (Eds), *Protozoan Parasites and Water*. Royal Society of Chemistry, Cambridge, pp.63-66.
55. Darabus, GH., Cosoroaia, I. et Morariu, S (2001). Epidémiologie de la cryptosporidiose chez les animaux dans l'Ouest de la Roumanie. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 152 (5) : 399-404.
56. Nolan, MJ., Jex, AR., Haydon, SR., Stevens, MA et Gasser, RB., (2010). Molecular detection of *Cryptosporidium cuniculus* in Australia. *Infection, Genetics And Evolution* 10 : 1179-1187.
57. Chermette R. et Boufassa-Ouzrout S., (1990). Cryptosporidiosis -A Cosmopolitan Disease in Animals and Man. *Vet. Parasitology*, 35 : 179-182.

ANNEXE A

Matériel non biologique et réactifs utilisés dans la partie expérimentale





FEGHOUL INES

Université de Blida- 1 / Institut des Sciences Vétérinaires

Promotrice : Dr. TARZAALI Dalila

Co- Promotrice : BOUKERT Razika

Thème

Etude de la cryptosporidiose chez le lapin

Résumé : La cryptosporidiose est une protozoose à répartition mondiale.

Elle est causée par un parasite nommé *Cryptosporidium spp* ; qui occasionne une atteinte digestive aussi bien chez l'homme que chez l'animal, notamment chez le lapin. Elle occasionne d'importantes pertes économiques dans un élevage.

Une étude préliminaire a été réalisée au niveau de la ferme expérimentale de l'université de Blida 1 ayant pour objectif, la mise en évidence du *Cryptosporidium spp* dans la matière fécale du lapin. Un total de 20 prélèvements de matières fécales de lapins ont été récoltés de différents lots. Deux méthodes de diagnostic ont été utilisées pour la mise en évidence de *Cryptosporidium spp*, la technique de Ritchie pour l'enrichissement suivi de la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée.

Les résultats obtenus indiquent une prévalence très élevée dans les matières fécales prélevées (80 %) avec un degré d'infestation faible (+1) à moyen (+2) (81,25 % et 18,75 %, respectivement). Par ailleurs, les résultats de la présente étude ont montré que la prévalence de la cryptosporidiose chez les mâles (100%) est plus élevée que celle enregistrée chez les femelles (60%). Avec un taux d'infestation similaire a été relevé chez l'adulte et les jeunes lapins (75%). Ce qui nécessite un dépistage systématique du parasite et une hygiène systématique dans cette ferme.

Mots clés : Cryptosporidiose, matière fécale, lapin, la technique de Ritchie, coloration de Ziehl-Neelsen modifiée.