



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

**Recherche de la Cryptosporidiose bovine dans les quelques élevages
de la WILAYA de Blida et Ain-Defla**

Présenté par
AGGOUN ASMAA
AGGOUN HANANE

Les membres du jury:

Président(e) :	SALHI O.	MAA.	ISV.Blida
Examineur :	BETAHAR S.	MAA.	ISV.Blida
Promoteur :	OUAKLI N.	MAA	ISV.Blida

Année : 2016

Remerciements

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à Dieu le tout puissant qui nous a donné la volonté et le courage afin de terminer ce travail.

Nos chaleureux remerciements à :

Notre encadreur madame Ouakli N, pour son aide, ses conseils et tous les efforts fournis pour la réalisation de ce travail.

Monsieur Salhi O. qui nous a fait l'honneur de présider notre jury de mémoire.

Madame Betahar S. qui a aimablement accepté d'examiner ce travail.

Dr Tikialine M, vétérinaire au niveau de la ferme de laiterie Waniss (Khemis Miliana) et Dr kwissi F, vétérinaire au niveau de la subdivision de la DSA (Oued Alleug) pour leur collaboration et leur gentillesse.

Nous remercions les éleveurs des élevages de l'étude, pour leur accueil, leur aide et leur sympathie.

Nous exprimons aussi notre reconnaissance aux membres de laboratoire de biotechnologie de l'institut de science vétérinaire (Blida).

Enfin, nous n'oublions pas nos très chers parents pour leur soutien, leur patience et pour tout ce qu'ils ont fait pour nous, nos chers sœurs, notre frère, nos amis et tout qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

DEDICACES

Je rends grâce a ALLAH le tout puissant pour tous les bienfaits dont il m'a comblé.

Ce mémoire ayant été rédigé, je le dédie :

À ma très chère maman,

Affable, honorable, aimable : tu représentes pour moi le symbole de la bonté, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

Je dédie ce travail en témoignage de mon profond amour à mon très cher papa,

L'épaule solide, l'œil attentif compréhensif et la personne le plus digne de mon estime et de mon respect aucun dédicace ne serait exprimer mes sentiments, que dieu te préserve et te procure santé et longue vie.

À mes sœurs Ahlem, Soumia, Asma, à mon frère Nabil, pour leur encouragements et leur amour, ainsi pour leur aide inestimable, leur patience et leur soutien indéfectible.

À toutes celles et ceux que je porte dans mon cœur et que je n'ai pas cité.

HANANE

DEDICACES

Je dédie ce mémoire :

À mes très chers parents.

À mes sœurs Soumia, Ahlem, et mon binôme Hanane.

À mon frère Nabil.

À mes copines Sabrina et Amina.

À mes amis

Et à tous ceux que j'aime.

ASMAA

Résumé

Notre travail a été entrepris dans le but d'évaluer la prévalence de la Cryptosporidiose dans trois élevages de bovins à vocation laitière, situés dans la wilaya de Blida (Beni Tamou) et Ain-Defla (Khemis Miliana) appartenant au secteur privé, durant une période allant du 25 octobre jusqu'à 21 novembre 2015.

Des échantillons fécaux ont été prélevés directement du rectum des bovins âgés de 5 jours à 14 ans, d'autre part, quelques échantillons ont été prélevés du sol des fermes visités.

Les échantillons diarrhéiques et non diarrhéiques ont été examinés macroscopiquement et microscopiquement par la technique de concentration de Ritchie simplifiée par Allen et Ridley suivie par la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz.

Sur un total de 350 sujets, l'analyse a révélé 86 % de cas positifs, indiquant une forte infestation des fermes visitées, également pour les prélèvements du sol qui semblent être le facteur le plus incriminé dans la propagation de la maladie.

Le *Cryptosporidium sp* a été isolé chez les animaux diarrhéiques et non diarrhéique avec une prévalence de 85.72% et 86.01% respectivement, il a été trouvé dans toutes les tranches d'âge avec un pic chez les sujets âgés de moins d'un (01) an avec un taux de 92.31%, en outre, notre étude a révélé que le sexe male a été plus touché que le sexe femelle avec un taux de 95.83 %.

Mots Clés : bovins - Technique de concentration de Ritchie - Coloration de Ziehl-Neelsen modifiée – *Cryptosporidium sp* - prévalence.

ملخص

أضطلع عملنا على تقييم مدى انتشار *Cryptosporidiose* في ثلاث مزارع أبقار حلوب موجودة في البلدة (بني تامو) وعين الدقل (خميس مليانة) تابعة للقطاع الخاص، في الفترة الممتدة من 25 أكتوبر إلى غاية 21 نوفمبر 2015. تم جمع عينات البراز مباشرة من مستقيم الأبقار التي يتراوح عمرها من 5 أيام إلى 14 عاما وأخرى أخذت من الأرض. بعد الفحص الماكروسكوبي للبراز (الإسهال أو لا الإسهال) استعملت تقنية ريتشي المركزة والمبسطة من قبل ألين وريدلي تليها تقنية التلوين لزهيل-نلسن المعدلة من قبل هنريكسن وفولنز للكشف المجهرى. كشف تحليل 350 عينة من البراز عن 86% حالة إيجابية، مما يشير إلى انتشار كثيف للعدوى في المزارع التي تم زيارتها، وأيضا بالنسبة للعينات المأخوذة من التربة التي يبدو أنها العامل الأكثر تورطا في انتشار المرض. تم عزل الطفيل *Cryptosporidium.sp* من الحيوانات المصابة بالإسهال والغير مصابة به مع انتشار 85.72% مقابل 86.01%، على التوالي، تم العثور عليه في جميع الفئات العمرية وبلغت ذروتها عند الحيوانات تحت 1 سنة (92.31%) ، بالإضافة الى ان الاصابة كانت أكثر عند الذكور مقارنة مع الإناث بنسبة 95.83%.

كلمات البحث: أبقار - تقنية ريتشي المركزة - تلوين تسيل-نلسن - *Cryptosporidium.sp* - إنتشار

Abstract

Our work has been undertaken to assess the prevalence of Cryptosporidiosis in three farms of dairy cattle located in Blida (Beni Tamou) and Ain Defla (Khemis Miliana) in the private sector, for a period from 25 October to 21 November 2015.

Fecal samples were collected directly from the rectum of bovine animals 5 days to 14 years and the other was taken from the ground.

After macroscopic examination of faeces (diarrhea or no diarrhea), a simplified Ritchie concentration technique Allen and Ridley followed by Ziehl-Neelsen modified by Henriksen and Pohlenz, were performed for microscopic identification.

The stool analysis of 350 subjects revealed 86% of positive cases, indicating a heavy infestation of farms visited, also for samples of soil that seem to be the most implicated factor in the spread of the disease.

The *Cryptosporidium.sp* was isolated from diarrheal and non-diarrheal animals with a prevalence of 85.72% and 86.01%, respectively, it was found in all age groups with a peak in the elderly under 1 year (92.31%) , more infection was greater in males than females with a rate of 95.83 %.

Key words: cattle- Technique of concentration of Ritchie - Colouring of Ziehl-Neelsen modified-
Cryptosporidium sp - prevalence.

Sommaire

SOMMAIRE

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

LISTE DES PHOTOS

Introduction 1

Partie bibliographique

CHAPITRE I : Etude du parasite

1. Historique : 3

2. Généralités sur le parasite : 4

2.1. La taxonomie 4

2.2. Caractéristique : 6

2.2.1. Biologique 6

2.2.2. Propriétés physico-chimiques 7

2.3. Biologie du parasite : 8

2.3.1. Déroulement du cycle 8

2.3.2. Morphologie des différents stades évolutifs de *Cryptosporidium* 9

3. Impact de *Cryptosporidium* en santé publique 11

CHAPITRE II: La Cryptosporidiose

1. Définition 12

2. Aspect zoonotique 12

3. Dose infectante 12

4. Pathogénie : 12

4.1. Adhérence 13

4.2. Production de toxines 13

4.3. Lésions cellulaires 13

4.4. Apoptose 13

5. Symptômes 14

6. Lésions 15

7. Immunité	15
8. Diagnostic :	15
8.1. Sur l'animal vivant	15
8.1.1. Diagnostic épidémiologique	15
8.1.2. Diagnostic clinique	16
8.1.3. Diagnostic de laboratoire :	16
8.1.3.1. Les techniques d'étalement sur lame et coloration	17
8.1.3.2. Les techniques de concentration	18
8.2. Diagnostic nécropsique	18

CHAPITRE III : Epidémiologie

1. Répartition géographique	19
2. Prévalence :	19
2.1. Au niveau des fermes (au moins un animal excréteur)	19
2.2. Variation géographique et saisonnière	20
2.3. Variation selon l'âge	21
2.4. Variation selon le type de production bovine (boucherie vs laitière)	21
3. Modes de transmission :	21
3.1. Transmission verticale (mère à veau)	22
3.2. Transmission horizontale	22
3.2.1. Veau à veau	22
3.2.2. Par des vecteurs externes animés	23
4. Facteurs de risques :	24
4.1. Exposition en bas âge	24
4.2. Densité animale	24
4.3. Type de sol et nettoyage	24
4.4. Type de logement	25
4.5. Prise de colostrum	25
4.6. Alimentation	25

Partie expérimentale

I. matériel et méthode

1. Objectifs	26
2. Région d'étude	26
3. Description des élevages	27
4. Matériels	29
5. Méthodes	29
5.1. Récolte des échantillons	29
5.2. Méthode de coloration des oocystes :	29
5.2.1. Technique de concentration de Ritchie simplifiée par Allen et Ridley (1970)	29
5.2.1.1. Procédure	29
5.2.2. Technique de coloration de Ziehl Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz :	31
5.2.2.1. Procédure	31
5.2.2.2. Lecture	32

II. Résultats et discussion

1. Résultats	34
2. Discussion	39
Recommandations	41
Conclusion	42
Références bibliographiques	43
Annexes	54

LISTE DES TABLEAUX

Tableaux	Titre	Page
Tableau I	Position taxonomique du genre <i>Cryptosporidium</i>	5
Tableau II	Liste des espèces de <i>Cryptosporidium</i> considérées comme valides.	5
Tableau III	Morphologie des différents stades évolutifs de <i>Cryptosporidium</i>	10
Tableau IV	Répartition des élevages	27
Tableau V	Répartition des cas positifs et négatifs après coloration.	34
Tableau VI	résultat de coloration par rapport aux différentes fermes	35
Tableau VII	Fréquence de l'infection par <i>Cryptosporidium sp</i> en fonction du sexe.	36
Tableau VIII	Fréquence de l'infection par <i>Cryptosporidium sp</i> en fonction de l'âge	37
Tableau IX	Détermination de la fréquence de l'infection par <i>Cryptosporidium sp</i> , en fonction de la consistance des prélèvements.	38

LISTE DES FIGURES

Figures	Titre	Page
Figure 01	Cycle biologique de <i>Cryptosporidium</i> sp.	9
Figure 02	Situation géographique des trois fermes (Khemis Miliana et Beni Tamou).	26
Figure 03	Situation géographique des trois fermes (Khemis Miliana et Beni Tamou).	26
Figure 04	Technique de la lecture des lames.	32
Figure 05	Répartition des cas positifs et négatifs	34
Figure 06	Répartition des cas positifs et négatifs dans les 03 élevages.	35
Figure 07	Fréquence de l'infection par <i>Cryptosporidium</i> sp en fonction du sexe.	36
Figure 08	Fréquence de l'infection par <i>Cryptosporidium</i> sp en fonction de l'âge.	37
Figure 09	Détermination de la fréquence de l'infection par <i>Cryptosporidium</i> sp, en fonction de la consistance des prélèvements.	38

LISTE DES PHOTOS

Photos	Titre	Page
Photo 01	Ferme Digimex.	26
Photo 02	Ferme Brazi.	26
Photo 03	Ferme de la laiterie Waniss.	27
Photo 04	Parcage collectif des veaux (Ferme 01)	27
Photo 05	Parcage collectif des veaux (Ferme 02)	27
Photo 06	parcage individuel (Ferme 03)	28
Photo 07	l'état d'hygiène dans la ferme 03.	28
Photo 08	l'état d'hygiène dans la ferme 03.	28
Photo 09	l'état d'hygiène dans les fermes 01 et 02.	28
Photo 10	l'état d'hygiène dans les fermes 01 et 02.	28
Photo 11	2 à 3 g de fèces déposé dans un verre a pied conique	30
Photo 12	sédimentation du mélange	30
Photo 13	Ajouter un volume d'éther équivalent au 1/3 du volume total du tube.	30
Photo 14	Laisser un espace d'environ 1 cm de l'ouverture du tube qui permet l'émulsion des matières fécales pendant l'agitation.	30
Photo 15	centrifugation.	30
Photo 16	Après la centrifugation, on obtient dans le tube 4 couches.	31
Photo 17	Déposer une goutte de culot sur la lame à l'aide d'une pipette pasteur.	31
Photo 18	Etaler le frottis à l'aide d'une lame.	31
Photo 19	Colorer le frottis dans la solution de la fushine de ziehl pendant une heure.	31
Photo 20	Rincer à l'eau du robinet.	31
Photo 21	Différencier dans de l'acide sulfurique à 2% pendant quelque secondes.	31
Photo 22	Contre colorer avec du vert de malachite pendant dix minutes.	32
Photo 23	coloration de Ziehl Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz.	32
Photo 24	Oocystes de <i>cryptosporidium sp</i> observés au microscope optique G x 100	33
Photo 25	Oocystes de <i>cryptosporidium sp</i> observés au microscope optique G x 100	33

Introduction

Introduction

La découverte des cryptosporidies est ancienne depuis 1907, leur implication en pathologie bovine ne fut mise en évidence qu'en 1971 par PANCIERA et collaborateurs (Panciera et *al.*, 1971), qui décrivent pour la première fois une Cryptosporidiose clinique sur une génisse de 8 mois, puis en 1974, deux cas de Cryptosporidiose bovine ont été rapportés dont un chez un veau âgé de 2 semaines (Meuten et *al.*, 1974).

Chez les bovins, on rencontre deux espèces de cryptosporidies :

Cryptosporidium parvum à localisation intestinale, l'espèce la plus fréquente chez les jeunes et la plus pathogène (Ramirez et *al.*, 2004).

Cryptosporidium andersoni, parasite de la caillette des bovins adultes, rarement pathogène (Enemark et *al.*, 2002).

La Cryptosporidiose se caractérise, le plus souvent, par des diarrhées néonatales chez les jeunes ruminants et des diarrhées plus ou moins graves chez l'homme selon l'état immunitaire du sujet. En 10 ans, les connaissances concernant le *Cryptosporidium* ont considérablement évolué : d'organisme commensal très spécifique d'hôte, il est maintenant reconnu comme ubiquiste, non spécifique et pathogène et la Cryptosporidiose est considérée comme une zoonose (Naciri, 1992).

L'importance de *Cryptosporidium parvum* s'avère considérable, autant sur le plan économique que sur le plan médical ou zoonotique (Peeters et Villacorta, 1995) :

Sur le plan économique : des pertes consécutives à la cryptosporidiose chez les ruminants nouveau-nés sont liées à la morbidité, à la mortalité, aux retards de croissance, aux frais et au temps passé à soigner les animaux malades (Schelcher, 1999 ; Naciri et *al.*, 2000).

Sur le plan zoonotique : un être humain ayant un système immunitaire adéquat présentera peu ou pas de symptômes. Par contre, un individu déjà atteint d'une autre maladie pourra être sévèrement affecté. La forme infectieuse du parasite, très persistante dans l'environnement, et excréte dans le fumier qui se retrouvera sur les pâturages ou sera épandue sur les terres agricoles. Par ruissellement, les eaux de surface peuvent être contaminées par ces parasites et, conséquemment, l'eau potable. Il s'agit donc d'une question de santé publique (Sonzogni-Desautels, 2009).

Par ailleurs, la cryptosporidiose bovine est une zoonose, il nous a paru opportun d'entreprendre une étude afin de connaître l'incidence de cette pathologie dont l'agent étiologique serait le *Cryptosporidium sp.*

Pour ce faire, nos objectifs sont les suivants :

- Evaluer la prévalence de la cryptosporidiose chez les adultes (vaches mères) et les nouveaux nés dans les élevages visités
- Evaluer l'incidence des sujets atteints.

Partie bibliographique

CHAPITRE I : Etude du parasite

1. Historique :

Le genre *Cryptosporidium* est décrit pour la première fois en 1907 par Tyzzer qui observe ce protozoaire parasite dans les glandes gastriques d'une souris de laboratoire (*Mus musculus*). Le parasite est considéré comme un nouveau genre de sporozoaire et le genre *Cryptosporidium* qui signifie « sporocyste caché » est établi. L'espèce découverte est nommée *Cryptosporidium muris*. Cinq ans plus tard, Tyzzer découvre chez la souris également, une autre espèce du genre morphologiquement identique mais plus petite et est localisée dans l'intestin grêle : il s'agit de *Cryptosporidium parvum* (O'Donoghue, 1995).

En 1925, TRIFFIT décrit *Cryptosporidium crotali* chez le serpent à sonnette (*Crotalus confluentis*) (Levine, 1984).

En 1955, Slavin découvre l'importance pathogénique du genre : *Cryptosporidium meleagridis* est associé à une maladie clinique provoquant une diarrhée et une faible mortalité chez la dinde. Vingt ans plus tard, on retrouve le genre *Cryptosporidium* dans l'intestin de veaux diarrhéiques ce qui confirme le rôle pathogène potentiel du parasite. On considère aujourd'hui que l'espèce en cause était *Cryptosporidium parvum* (Anonyme 1, 2001).

En 1974, deux nouveaux cas de cryptosporidiose bovine sont rapportés, dont l'un sur un veau âgé de deux semaines et qui présentait une diarrhée pendant 10 jours (Meuten et al., 1974 ; Naciri, 1994). A partir de là, des chercheurs du Nord-Américain décrivent la présence d'infections cryptosporidiennes sur des veaux laitiers et allaitants âgés de moins de deux semaines et présentant une diarrhée aiguë (Angus, 1990).

En 1976, *Cryptosporidium sp.* est mis en évidence chez deux patients humains présentant une diarrhée sévère. Un an plus tard, une nouvelle espèce est établie chez un serpent : *Cryptosporidium serpentis*. D'autres cas de cryptosporidiose humaine sont ensuite décrits essentiellement chez des patients immunodéprimés (immunodépression congénitale ou thérapie immunosuppressive). (Anonyme 1, 2001).

En 1980, TZIPORI et al. rapportent une enzootie de diarrhée chez des veaux infectés naturellement par *Cryptosporidium*, sans pouvoir démontrer la présence d'autres agents entéropathogènes communément impliqués dans les diarrhées néonatales du veau (Lorenzo et al., 1995 ; Angus, 1990). Toutes ces infections cryptosporidiennes diarrhéiques des bovins seront par la suite reliées à *Cryptosporidium parvum* (Angus, 1990).

En 1985, une forme abomasale d'infection cryptosporidienne est retrouvée sur un bovin aux USA (Angus, 1990). Elle est provoquée par une espèce apparemment identique à

Cryptosporidium muris, l'espèce découverte à l'origine dans l'estomac de la souris par TYZZER en 1907 (Xiao et *al.*, 2000).

Depuis la cryptosporidiose est reconnue comme une cause primaire, fréquente et grave de diarrhée chez de nombreux mammifères dont l'homme. Elle entre dans le domaine de la santé publique dans les années 90 quand plusieurs foyers causés par la consommation d'eau contaminée sont recensés (Anonyme 1, 2001).

2. Généralités sur le parasite :

2.1. La taxonomie :

On a longtemps pensé que le *Cryptosporidium* était apparent aux coccidies, en raison des nombreuses similitudes de leur cycle biologique. Cependant le *Cryptosporidium* ne semble pas posséder d'organelle « mitochondria-like », retrouvé chez les coccidies classiques.

La position systématique de *Cryptosporidium* au sein des protistes est décrite dans le Tableau I. Pour caractériser ces parasites, différentes études prennent en considération divers éléments autres que la morphologie ou la spécificité d'hôte, et ont permis de remarquer aussi l'importance des différences au niveau du site d'infection préférentiel, de l'infectivité des parasites, des critères biochimiques, des critères immunologiques, et des critères génétiques entre les différentes espèces de *Cryptosporidium* (Xiao et *al.*, 2004).

Dans le Tableau II se trouve la liste des espèces de *Cryptosporidium* considérées actuellement comme valides.

Tableau I : Position taxonomique du genre *Cryptosporidium* (Current & Garcia, 1991 ; Fayer, 1997 ; Smith et *al.*, 2007 ; Tyzzer, 1907)

Classification	Caractéristiques biologiques
Eukaryota	Caractérisés principalement par des cellules possédant un noyau avec enveloppe nucléaire.
Alveolata	Présence de vésicules sous membranaires (alvéoles).
Apicomplexa	Présence d'un complexe apical chez les formes invasives.
Coccidiasina	Cycle biologique comprenant mérogonie, gamétogonie et sporogonie.
Eucoccidiorida	Existence de mérogonie (Schizogonie).
Eimeriorina	Développement indépendant des macro et microgamontes
Cryptosporidiidae	Cycle biologique monoxène. Oocystes contenant quatre sporozoïtes nus. Développement sous la bordure en brosse des cellules épithéliales colonisées.

Tableau II : Liste des espèces de *Cryptosporidium* considérées comme valides (Certad, 2008)

Espèce	Hôtes principaux	Présence chez l'H°	Principaux sites d'infection	Associé à pathologie	Taille des oocystes (µm)
<i>C. andersoni</i>	Bovin domestique	Oui	Estomac	Oui	7,4 x 5,5
<i>C. baileyi</i>	Poulet	Oui	Trachée, bourse de Fabricius, cloaque	Oui	6,3 x 5,2
<i>C. bovis</i>	Bovin domestique	NR	Intestin	Non	4,9 x 4,6
<i>C. canis</i>	Chien domestique	Oui	Intestin grêle	Oui	4,8 x 7,2
<i>C. fayeri</i>	Kangourou	NR	–	–	4,9 x 4,3
<i>C. felis</i>	Chat domestique	Oui	Intestin grêle	Oui	4,6 x 4,0
<i>C. fragile</i>	Crapaud	NR	Estomac	NR	6,2 x 5,5
<i>C. galli</i>	Poulet domestique	NR	Proventricule	Oui	8,3 x 6,3
<i>C. hominis</i>	Homme	Oui	Intestin	Oui	4,9 x 5,2
<i>C. macropodum</i>	Kangourou	NR	–	–	4,9 x 5,4
<i>C. meleagridis</i>	Dindon	Oui	Intestin	Oui	5,0 x 4,4
<i>C. molnari</i>	Poisson	NR	Estomac	Oui	4,7 x 4,5

<i>C. muris</i>	(Dorade) Souris	Oui	Estomac	Oui	8,4 x 6,2
<i>C. nasorum</i>	Poisson (licorne d'eau de mer)	NR	Intestin	-	4,3 x 3,3
<i>C. parvum</i>	Souris, bovin domestique, homme	Oui	Intestin grêle	Oui	4,9 x 4,4
<i>C. ryanae</i>	Bovin domestique	NR	–	Non	3,7 x 3,16
<i>C. saurophilum</i>	Lézard	NR	Intestine, muqueuse cloacale	Oui	5,0 x 4,7
<i>C. serpentis</i>	Serpent	NR	Estomac	Oui	6,2 x 5,3
<i>C. suis</i>	Sanglier	Oui	Intestin	Non	4,6 x 4,2
<i>C. scophithalmi</i>	Poisson (turbot)	NR	Intestin, estomac	Non	4,4 x 3,9
<i>C. wrairi</i>	Cochon d'inde	NR	Intestin grêle	-	5,4 x 4,6

NR : non rapporté

2.2. Caractéristique :

2.2.1. Biologique :

Les espèces du genre *Cryptosporidium* possèdent un cycle monoxène où tous les stades de développement se déroulent chez un même hôte.

-Lieu : épithélium de l'intestin grêle, gastro-intestinal en général mais d'autres localisations sont possibles.

-La période prépatente (durée du cycle parasitaire chez l'hôte soit la durée qui s'écoule entre l'ingestion et l'excrétion des premiers oocystes) : 2 à 14 jours chez la plupart des espèces domestiques avec une moyenne de 3 à 6 jours.

-La période patente (durée totale d'excrétion) : les variations inter et intra espèces de quelques jours à quelques mois en fonction de l'immunocompétence de l'hôte, de l'espèce de *Cryptosporidium* en cause. Expérimentalement, lorsqu'on infecte des veaux nouveau-nés avec *Cryptosporidium parvum*, la durée d'excrétion s'étend de 4 à 13 jours.

-Espèces hôtes : un très grand nombre d'espèces de mammifères dont l'homme peuvent être infectées par *Cryptosporidium parvum*. Ce manque de spécificité d'hôte permet au parasite de se reproduire aisément et d'avoir une large gamme d'hôtes excréteurs potentiels à disposition (Fayer et al., 2000)

Le genre *Cryptosporidium* se distingue des autres coccidies par :

- l'absence de spécificité vis-à-vis son hôte.

- l'absence du stade sporocyste.
- la présence de microgamètes aflagellés,
- la croissance juste au-dessous de la membrane superficielle de la cellule parasitée dans une vacuole parasitophore avec une localisation intracellulaire mais extracytoplasmique (Gati, 1992).

Il existe cependant deux particularités majeures par rapport au cycle classique des coccidies, qui contribuent à conférer à l'épidémiologie de la cryptosporidiose un caractère « explosif » :

- les oocystes éliminés dans le milieu extérieur sont sporulés et donc directement infectieux pour un autre animal ;
- environ 20% des oocystes produits dans l'intestin peuvent s'ouvrir dans celui-ci en libérant des sporozoïtes, qui vont à leur tour envahir de nouvelles cellules épithéliales intestinales. Il y a donc possibilité d'auto-infection (Naciri & Yvove, 1983).

2.2.2. Propriétés physico-chimiques :

Les ookystes sont très résistants dans le milieu extérieur. Les variations de températures naturelles et de nombreux désinfectants classiques n'inhibent pas leur pouvoir infectant.

En revanche, la dessiccation, est efficace ainsi que l'ammoniaque (5 %), l'eau oxygénée (3 %) et le formol (10 %) (Chambon, 1990 ; Smith & Sherman, 1994 ; Chartier, 2002)

Concernant le risque de contamination lié à l'eau ; il faut savoir que le chlore utilisé en routine n'altère pas (ou très peu) la viabilité des ookystes (et la filtration de l'eau n'élimine pas les ookystes). L'ozone et les rayons ultraviolets sont par contre montrés efficaces. Les ookystes peuvent également survivre dans l'eau de mer. (Fayer, 2004).

2.3. Biologie du parasite :

2.3.1. Déroulement du cycle :

Les parasites du genre *Cryptosporidium* sont de parasites monoxènes, c'est-à-dire à un seul hôte. La forme de résistance et de dissémination est l'oocyste, excrété avec les fèces des sujets infectés. Pour que le cycle parasitaire soit initié (Figure 01), l'hôte doit ingérer des oocystes infectants renfermant quatre sporozoïtes (Current & Garcia, 1991 ; Fayer ,1997).

Après l'ingestion, l'oocyste est excysté sous l'action de la trypsine et des sels biliaires bien que ces sels ne seraient pas indispensables, libérant ses 4 sporozoïtes, éléments infectants. L'exposition de l'oocyste aux sels biliaires, bien que pouvant favoriser l'excystation, ne lui semble pas indispensable. L'excystement en absence de sels biliaires permettrait d'expliquer l'infection de sites extra-intestinaux comme le tractus respiratoire.

Les sporozoïtes sortent de l'oocyste et se déplacent par glissement grâce à leur système microtubulaire pour arriver au niveau de la bordure en brosse des cellules épithéliales de l'intestin. Les sporozoïtes présentent alors leur complexe apical à la membrane entérocytaire. Ils sont progressivement recouverts par la membrane plasmique des cellules épithéliales (Current & Garcia, 1991 ; Fayer ,1997). Logés dans la vacuole parasitophore ainsi formée, ils acquièrent une position atypique : intracellulaire et extra-cytoplasmique. Ce stade parasitaire internalisé est appelé trophozoïte.

Le cycle de développement comporte deux mérogonies ou schizogonies ou multiplications asexuées, suivies de la gamétogonie. Le trophozoïte donne naissance à un méronte de type I contenant huit cellules filles ou mérozoïtes de type I.

Ces huit mérozoïtes de 1^{ère} génération vont infecter les cellules voisines et auront deux destins possibles : soit donner naissance à de nouveaux mérontes de type I (recyclage), soit initier une mérogonie de 2^{ème} génération ou type II (qui donnera des mérozoïtes de type II). Ces derniers, qui sont 4 par méronte II, initient la reproduction sexuée ou gamétogonie. Pour cela, ils se différencient soit en microgamonte mâle, soit en macrogamonte femelle (Current & Garcia, 1991 ; Fayer ,1997).

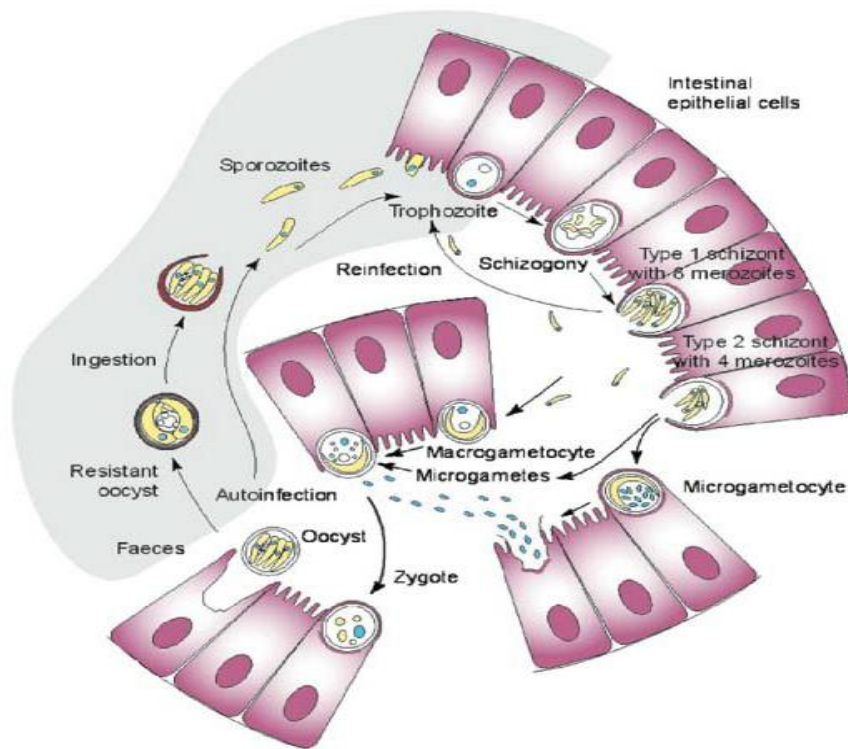


Figure 01 : Cycle biologique de *Cryptosporidium* sp (Smith et *al.*, 2007)

Les microgamontes deviennent multinuclées, chaque noyau étant ensuite incorporé dans un microgamète. Les macrogamontes demeurent uninuclées en devenant de macrogamètes. La fécondation a lieu suite à l'union des macrogamètes et des microgamètes. Celle-ci aboutit à la formation de zygotes qui deviennent des oocystes.

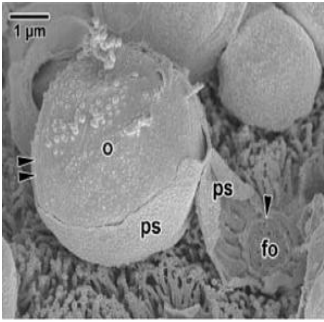
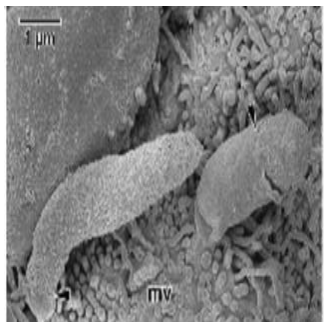
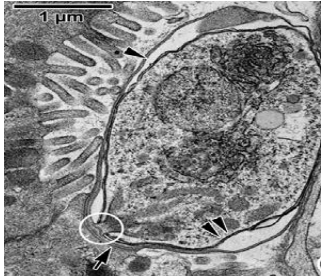
Ces derniers sont émis sporulés dans la lumière intestinale, rejetés avec les fèces dans le milieu extérieur et sont directement infectants pour un autre hôte sensible.

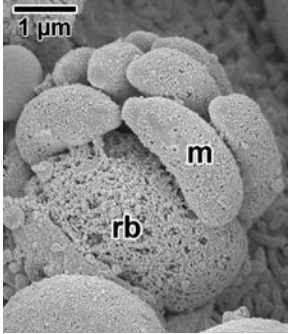
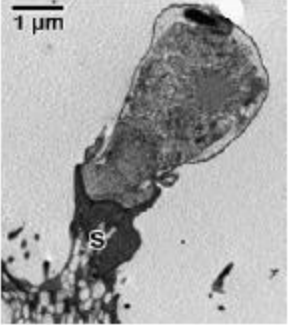
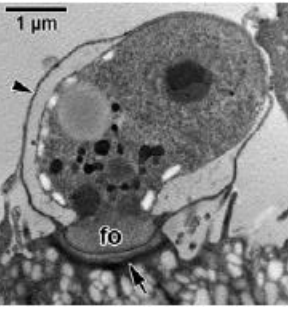
Les particularités du cycle de *Cryptosporidium* par rapport à celui des autres coccidies consistent en l'excrétion d'oocystes directement infectants, le recyclage des mérozoïtes de 1^{ère} génération et la formation d'oocystes à paroi fine (20%) qui désenkystent immédiatement *in situ* (non éliminés avec les selles), entretenant l'infection. Ces particularités expliqueraient le maintien de l'infection chez les sujets immunodéprimés (Current & Garcia, 1991 ; Fayer, 1997).

2.3.2. Morphologie des différents stades évolutifs de *Cryptosporidium* :

Dans le tableau suivant (Tableau III) se trouve une description détaillée des différents stades évolutifs du parasite.

Tableau III : Morphologie des différents stades évolutifs de *Cryptosporidium*

Formes évolutives	Images	Description
Oocystes	 <p>o : oocyst ps : vacuole parasitophore (« parasitophorus sac ») fo : organelle nourricier (« feeder organelle »)</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Forme sphérique à ovoïde. 2. Leur diamètre varie entre 4 et 8 µm selon les espèces. 3. Chaque oocyste contient quatre sporozoïtes nus sans sporocystes, et présente un corps résiduel granuleux central très réfringent. 4. Leur paroi est composée de deux couches, interne et externe, bien distinctes. La couche externe, de densité électronique variable, est composée d'une matrice polysaccharidique. Cette matrice, où le glucose est le sucre prédominant, est immunogène et hautement résistante aux protéases. La couche interne est peu électrodense. Elle semble composée de glycoprotéines filamenteuses et pourrait contribuer à la robustesse et à l'élasticité de la paroi. 5. À l'un de leurs pôles, une structure unique semblable à une fente s'étend sur 1/3 à 1/2 de leur circonférence. Lors de l'excystation, l'ouverture de cette suture permet la libération des sporozoïtes.
Sporozoïtes et merozoïtes	 <p>mv : microvillosités</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Ils sont élancés, virguliformes. 2. Formes libres et mobiles. 3. Présence d'un complexe apical. 4. Les rhoptries, les micronèmes, les granules denses, le noyau, les ribosomes, les microtubules ainsi que les anneaux apicaux sont visibles par microscopie électronique. 5. Il faut toutefois noter l'absence de mitochondrie, de conoïde et de micropores. 6. Lorsqu'ils se fixent à la cellule hôte, les microvillosités l'entourent et forment une vacuole parasitophore. Des changements au niveau de l'apex de la cellule hôte et dans le parasite mènent à la formation d'une organelle dit d'attachement ou nourricier.
Trophozoïtes		<p>Ils possèdent un noyau unique proéminent et une organelle d'attachement/nourricier bien développé montré par la flèche sur l'image.</p>

<p>Mérontes</p>	 <p>m : merozoïtes rb : corps résiduel (« residual body »)</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Un cycle de multiplication asexué (merogonie ou schizogonie), mène à la formation de mérontes de type I contenant chacun six à huit merozoïtes. 2. Les merozoïtes restent attachés à un corps résiduel par leur extrémité postérieure. 3. Une fois matures les merozoïtes se séparent du corps résiduel. La membrane cellulaire de l'hôte entourant le méronte se lyse et les merozoïtes deviennent extracellulaires, capables d'infecter d'autres cellules hôtes pour produire de nouveaux méronte type I ou ils peuvent évoluer vers des mérontes type II à quatre merozoïtes.
<p>Microgamontes</p>	 <p>s : (« stem »)</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Ils ressemblent aux mérontes, mais contiennent des noyaux plus petits. 2. Des divisions nucléaires successives dans le microgamontes forment de microgamètes. 3. Chaque microgamète se forme par une protrusion nucléaire à la surface du gamonte. 4. Ils sont une forme en tige avec une extrémité antérieure aplatie.
<p>Macrogamontes</p>	 <p>fo : organelle nourricier (« feeder organelle »)</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Forme sphérique à ovoïde. Ils présentent en position centrale un grand noyau à nucléole proéminent. 2. Les microgamètes s'attachent par les bords de leur coiffe apicale à la surface des cellules comportant des macrogamontes, qu'ils fécondent pour produire un zygote, qui se développe ensuite en oocyste. Ils donnent naissance à un seul macrogamète. 3. Les microgamètes fécondent les macrogamètes pour produire un zygote qui évolue en oocyst.

Images de microscopie électronique par transmission d'après (Valigurova et *al.*, 2008)

Description d'après (Fayer ,1997).

3. Impact de *Cryptosporidium* en santé publique:

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a classifié *Cryptosporidium* comme un pathogène d'importance en santé publique due à sa capacité d'infecter avec des très faibles doses d'oocystes, et à la résistance du parasite aux traitements d'eau conventionnels comme la chloration (Anonyme 3, 2006).

CHAPITRE II: La Cryptosporidiose

1. Définition :

La Cryptosporidiose est une maladie parasitaire provoquée, par un protozoaire, ubiquiste du genre *Cryptosporidium*, parasitant les épithéliums des voies digestives et/ou respiratoires de l'homme et de nombreuses espèces animales (O'Donoghue, 1995).

2. Aspect zoonotique :

La Cryptosporidiose fait partie des infections en émergence depuis 1970. Elle a été identifiée comme une maladie transmissible à l'homme en 1976. Chez l'homme en milieu urbain, la présence d'anticorps contre le *Cryptosporidium* est de 35% tandis qu'elle est de 80% chez ceux vivant en milieu rural. Les personnes à risque de contacter la cryptosporidiose sont principalement les humains immunosupprimés (système immunitaire affaibli) (Daignault et al., 2009).

3. Dose infectante :

La dose infectante pour les bovins n'est pas connue bien que l'on pense qu'elle est petite (Okhuysen et al., 1999). En effet, il ne faut qu'une centaine d'œufs pour contaminer un jeune veau, alors qu'on en retrouve jusqu'à 10 millions par gramme dans le fumier diarrhéique (Daignault, 2007).

4. Pathogénie :

Cryptosporidium parvum est un parasite qui se localise dans la bordure microvillositaire des entérocytes et se développe dans une vacuole parasitophore. Cette position caractéristique dans la cellule hôte est qualifiée d'intra-cellulaire mais extra-cytoplasmique. C'est un parasite qui peut produire des anomalies significatives dans les fonctions d'absorption et de sécrétion de l'intestin. Ces altérations épithéliales sont probablement le résultat soit d'atteintes directes de la cellule épithéliale de l'hôte, soit des perturbations indirectes causées après recrutement de cellules et de cytokines pro-inflammatoires, soit des deux effets associés. Le résultat final serait la diarrhée (Okhuysen & Chappell, 2002). Les facteurs spécifiques de virulence de *Cryptosporidium* n'étaient pas bien connus. Néanmoins, certaines molécules candidates ont été identifiées par des méthodes immunologiques et moléculaires, et certains mécanismes associés à la pathogénicité ont été décrits, (Certad, 2008) :

1. Adhérence:

Pour établir l'infection, l'étape initiale critique est l'attachement du parasite aux cellules hôtes. Récemment, plusieurs molécules probablement associées à l'adhérence ont été caractérisées comme par exemple le CSL (circumsporozoïte -like) (Riggs *et al.*, 1997), la gp900 (Barnes *et al.*, 1998), le complexe gp15/40/60 (Cevallos *et al.*, 2000; Strong *et al.*, 2000), TRAP-C1 et TRAP-C2 (thrombospondin related adhesion proteins) (Spano *et al.*, 1998), la cp47 (Nesterenko *et al.*, 1999) et la Cps 500 (Riggs *et al.*, 1999).

2. Production de toxines:

La diarrhée est le symptôme le plus caractéristique de la cryptosporidiose, mais le mécanisme spécifique par lequel le *Cryptosporidium* induit la diarrhée n'a pas été identifié. Des études précédentes ont postulé que *Cryptosporidium* produirait une entérotoxine responsable de la diarrhée sécrétoire profuse. Plusieurs observations soutiennent cette idée. La diminution du flux d'anions en présence d'inhibiteurs de cyclo-oxygénase a mené à l'hypothèse d'une activité potentielle entérotoxigène de *Cryptosporidium*. Celle-ci impliquerait la sécrétion des prostaglandines par les cellules épithéliales intestinales infectées (Okhuysen & Chappell, 2002).

3. Lésions cellulaires :

En infectant des cultures en monocouche d'entérocytes avec *Cryptosporidium*, des altérations cellulaires ont été documentées comme la rupture des jonctions inter-cellulaires, la perte de la fonction barrière et la libération de lactate déshydrogénase intracellulaire (Adams *et al.*, 1994). Les mécanismes impliqués dans la rupture des membranes pendant l'invasion de *Cryptosporidium* demeurent inconnus. Les phospholipases, les protéases, ou les hémolysines sont des molécules qui peuvent potentiellement altérer directement les tissus. Une protéine spécifique de *Cryptosporidium* pourrait être associée à l'invasion cellulaire et à la perte de fonction barrière. C'est l'hémolysine H4 codée par le gène hemA (Steele *et al.*, 1995).

4. Apoptose :

Plusieurs groupes ont suggéré que *Cryptosporidium* était cytopathogène vis-à-vis des cellules épithéliales directement infectées mais également des cellules non infectées. En utilisant des cellules épithéliales biliaires en culture, Chen *et al.* ont démontré que cet effet cytopathogène est lié à l'apoptose des cellules infectées et des cellules non infectées au moment de l'entrée du parasite dans la cellule (Chen *et al.*, 1999). Le parasite peut moduler l'apoptose en favorisant la mort programmée de celles-ci au moment de l'infection, et en inhibant l'apoptose après l'infection, afin probablement de faciliter sa croissance dans des cellules infectées. (Mele *et al.*, 2004).

5. Symptômes :

La maladie s'exprime cliniquement essentiellement chez les animaux nouveau-nés. Les veaux peuvent être contaminés juste après la naissance. S'ils demeurent artificiellement en dehors de tout contact avec le parasite, ils seront avec l'âge, toujours sensibles à l'infection mais les signes cliniques seront moins sévères.

Chez l'adulte, le développement du parasite ne s'accompagne généralement pas de symptômes (De graaf et *al.*, 1999).

La principale manifestation clinique est une diarrhée aqueuse profuse, de couleur jaune pâle et ayant une odeur désagréable (O'Donoghue, 1995).

Elle est précédée d'une phase d'abattement et d'anorexie. Cette diarrhée s'accompagne de l'excrétion d'oocystes. Elle débute 3 à 5 jours après l'infection (De graaf et *al.*, 1999).

Chez les veaux, on observe une grande variabilité dans la durée et l'intensité de cette diarrhée. La sévérité de la diarrhée varie aussi grandement allant de bouses peu formées à une diarrhée aqueuse pratiquement translucide. Cette grande variabilité dans l'expression clinique, même dans des conditions identiques, s'explique par une variabilité de la réponse individuelle de l'hôte face à la cryptosporidiose. Ceci suggère l'importance du statut immunitaire de l'hôte dans la résistance à cette maladie (Anderson, 1998).

D'autres signes cliniques non spécifiques s'observent comme de la déshydratation consécutive à la diarrhée, une perte de poids et une baisse de l'état général avec abattement, poil piqué, hyperthermie. Cela se traduit par un retard de croissance pendant les premiers jours de vie de l'animal. Pratiquement tous les animaux souffrent de diarrhée mais la plupart se rétablissent en une à deux semaines. En général, ils n'ont pas besoin de traitement et les pertes ne dépassent pas 2 % du troupeau (Anderson, 1998).

Ces pertes peuvent être plus lourdes (jusqu'à 30 % de mortalité) surtout lors d'hivers rigoureux et lorsque la maladie coïncide avec une infection à *Rotavirus* ou *Coronavirus* (Naciri, 1994).

6. Lésions :

Les lésions macroscopiques sont peu spécifiques : le contenu de l'intestin est liquide, parfois des signes d'entérite, de distension gazeuse ou de congestion de la muqueuse sont présents. La lumière intestinale est envahie par une grande quantité de liquide et le colon est incapable de réabsorber tout ce liquide. La destruction des micro-villosités entraîne une réduction de la surface intestinale et donc une malabsorption et l'altération des enzymes de l'épithélium intestinal entraînent une maldigestion (Abrahamsen, 1998).

Microscopiquement, on observe une légère atrophie des villosités, une hyperplasie des cryptes et des points de nécrose de la muqueuse intestinale. On note une augmentation significative, lors de la première infection, du nombre de lymphocytes T CD4+ et CD8+ dans la population lymphocytaire intraépithéliale, dans la *lamina propria* et dans les plaques de Peyer de l'iléon (Abrahamsen, 1998).

7. Immunité :

L'immunité de l'hôte représente un facteur déterminant dans l'apparition de la cryptosporidiose (Gati, 1992). L'immunité cellulaire est largement plus importante que l'immunité humorale et fait intervenir principalement les lymphocytes T de souche CD4+. Cependant, le développement du parasite dans une vacuole parasitophore permettrait à celui-ci de se multiplier à l'abri des réactions immunitaires (Riggs, 2002).

Il n'existe malheureusement pas de vaccin pour prévenir la cryptosporidiose. Le colostrum semble toutefois jouer un rôle protecteur, du fait qu'il diminue la gravité des autres maladies entérique néonatales (Daignault et *al.*, 2009).

8. Diagnostic :

8.1. Sur l'animal vivant :

Les données épidémiologiques et cliniques permettent d'aboutir à une suspicion mais certainement pas à une certitude (Chartier, 2002).

8.1.1. Diagnostic épidémiologique :

Il semble que ce parasite ne soit pas spécifique et qu'il puisse se développer, avec ou sans manifestations cliniques, chez un grand nombre d'hôtes. Quoiqu'il en soit, la cryptosporidiose atteint les veaux âgés de 5 à 15 jours, la mortalité est faible alors que la morbidité est voisine de 100% (Navetat, 1999 ; Chartier, 2001 ; Radostits et *al.*, 2001).

La Cryptosporidiose atteint essentiellement les élevages allaitants. Un effet saison est par ailleurs à souligner pour la fréquence d'isolement des cryptosporidies, avec une augmentation régulière de janvier à mars (Chartier C. 2001).

Le cycle de développement de *Cryptosporidium parvum* est d'assez courte durée. Quatre à six jours après l'inoculation, on observe des oocystes dans les matières fécales des animaux infectés (Naciri & Yvove, 1983).

C'est un cycle classique des coccidies avec multiplications asexuées puis apparition d'un stade sexué et formation après fécondation du gamète femelle, d'oocystes éliminés en grande quantité avec les matières fécales pendant la deuxième semaine d'existence des veaux (Naciri & Yvove, 1983).

8.1.2. Diagnostic clinique :

Les signes cliniques de la Cryptosporidiose chez les bovins ne sont pas spécifiques et comprennent :

- de l'anorexie et de l'abattement dans les 24 heures avant la survenue de la diarrhée
- des douleurs abdominales avec ptose et des épreintes, une diarrhée jaunâtre, d'abord liquide, puis mucoïde, dont l'odeur devient nauséabonde après 24-48 heures;
- parfois une fièvre modérée.
- une perte de poids et de la déshydratation.

L'évolution est généralement favorable car la diarrhée ne rétrocede pas avec l'utilisation des traitements classiques.

Les symptômes persistent pendant environ une semaine, la plupart des veaux déclinent et se déshydratent, certains meurent. Après une à deux semaines, une certaine récupération à lieu, mais les veaux restent affaiblis et accusent des retards de croissance irrécupérables (Khelef et *al.*, 2007).

Les veaux qui les premiers extériorisent la maladie au cours de la saison de vêlage ont une importance fondamentale : ils représentent les « sentinelles » de l'infection, qui doivent inciter à procéder au diagnostic étiologique (Khelef et *al.*, 2007).

8.1.3. Diagnostic de laboratoire :

Il repose sur la mise en évidence d'ookystes dans les matières fécales. Ces ookystes mesurent 4 à 5 microns de diamètre (Rocques, 2006).

La présence d'ookystes n'est certes pas synonyme de cryptosporidiose mais il existe une forte corrélation entre la quantité d'ookystes excrétés et l'existence ou l'intensité des diarrhées (Chartier, 2002 ; Delafosse et *al.*, 2003). Les matières fécales peuvent être prélevées dans le rectum ou sur le sol (Chartier, 2002).

- Différentes techniques existent :

8.1.3.1. Les techniques d'étalement sur lame et coloration :

Ces techniques de colorations sont simples et peu onéreuses. Elles requièrent un œil exercé Le diagnostic de routine est souvent fait avec ces méthodes étant donné le haut niveau d'excrétion d'ookystes chez les animaux diarrhéiques atteints de Cryptosporidiose (Polack et *al.*, 1983 ; Chartier et *al.*, 2002).

- Méthode de Henriksen modifiée, aussi appelée Ziehl-Neelsen modifiée :

La coloration de Ziehl-Neelsen modifiée permet de visualiser les ookystes colorés par la fuchsine, ils apparaissent rouges sur fond bleu (Rocques, 2006). C'est la méthode de référence (Chambon, 1990 ; Chartier et *al.*, 2002).

Certaines structures risquent d'être confondues avec les ookystes :

- des levures, elles sont en fait plus grosses que les ookystes (6 à 10 microns) et de couleur bleue
- des globules de graisse
- des éléments bactériens (plus petits)
- des grains d'amidons, rouges et ronds avec des cercles concentriques
- des dépôts de fuchsine, rouges et sans structures internes (Chambon, 1990 ; Casemore, 1991; Chartier et *al.*, 2002).

C'est une méthode semi-qualitative (Chartier et *al.*, 2002).

- Méthode de Heine :

Les ookystes apparaissent brillants sur un fond rouge et plus sombre (Rocques, 2006).

Ils ne doivent pas être confondus avec des bulles d'air, réfringentes également, mais sans structures internes. Les lames doivent être lues rapidement (dans les 15 minutes), la réfringence s'atténue et disparaît ensuite (Chambon, 1990). La lecture est nettement plus facile en microscopie à contraste de phase. Ce matériel n'est pas toujours très répandu ce qui constitue une des limites d'utilisation de la méthode. La méthode peut apporter des informations semi-quantitatives (Delafosse et *al.*, 2003).

8.1.3.2. Les techniques de concentration :

Elles sont plus sensibles que les précédentes. Parmi ces techniques, la flottation en solution de saccharose saturée est la plus utilisée.

Une quantification est possible par comptage des ookystes en cellule de Thoma (Chartier et *al.*, 2002).

La lecture doit se faire immédiatement après la préparation de la lame et suppose un œil averti (Chambon, 1990).

Ces trois méthodes sont les plus classiquement utilisées. Elles ne sont pas lourdes à mettre en œuvre et leur niveau de sensibilité est suffisant sur des animaux diarrhéiques.

Les techniques d'immuno-marquage, immunofluorescence et ELISA ont une haute sensibilité et une bonne spécificité. Leur réalisation est plus lourde (Chartier et *al.*, 2002).

8.2. Diagnostic nécropsique :

Aucun élément majeur n'est à signaler au plan macroscopique.

Les lésions sont :

- cachexie et amyotrophie
- distension du caecum et du colon
- contenu intestinal plus au moins liquide, blanc, jaunâtre à brunâtre
- possible congestion du dernier tiers de l'iléon et hypertrophie des nœuds lymphatiques mésentériques (Chambon, 1990 ; Chartier, 2002).

L'examen histologique de la partie terminale de l'intestin grêle révèle par contre une atrophie et une fusion des villosités, la dégénérescence et l'abrasion des microvillosités, une infiltration par diverses cellules inflammatoires et surtout la visualisation des parasites au sein de la bordure en brosse (Radostis et *al.*, 2000 ; Chartier, 2002).

La visualisation de ces lésions suppose que les tissus aient été fixés dans du formol immédiatement après la mort, elle est plus inconstante lors d'autolyse.

Les méthodes utilisées pour rechercher les ookystes dans les fèces restent applicables sur l'animal mort (Smith & Sherman, 1994).

CHAPITRE III : Epidémiologie

1. Répartition géographique :

La Cryptosporidiose est une maladie cosmopolite. (Ripert & Guyot , 2003).

2. Prévalence :

Il existe des facteurs expliquant la variation de la prévalence selon les études épidémiologiques. Les méthodes diagnostiques ne sont pas les mêmes selon l'année (plus de biologie moléculaire depuis 2000) et selon le but visé (établir une prévalence ou caractériser des isolats). Il existe aussi des variations inhérentes à la pathogénie du parasite. Ainsi, l'excrétion d'ookystes varie en fonction de l'âge des animaux prélevés et selon le nombre d'échantillons réalisés sur le même animal (excrétion transitoire et variable du parasite) (Buret et *al.*, 1991).

Lorsqu'on prélève deux fois par semaine pendant un mois les veaux d'un marché, on peut trouver une prévalence très élevée (93 % selon une étude de Villacorta et ses collaborateurs effectuée en 1991 dans la Galice située au nord-ouest de l'Espagne) (Villacorta et *al.*, 1991) comparativement à ce que l'on trouverait au même âge en échantillonnant une seule fois (environ 30 % selon l'équipe de Maldonado-Camargo en 1998 et l'équipe de Garber en 1994) (Maldonado-Camargo et *al.*, 1998 ; Garber et *al.*, 1994).

2.1. Au niveau des fermes (au moins un animal excréteur) :

Les études réalisées en Amérique du Nord donnent une certaine variabilité de prévalence en fonction de la région pour les espèces du genre *Cryptosporidium*. À noter que lors de l'étude effectuée dans l'état de New York, 18,3 % des troupeaux étudiés étaient infectés par *C. muris* (Wade et *al.*, 2000). L'âge des animaux utilisés pour ces études varie beaucoup, ce qui peut influencer la prévalence de façon importante. De plus, certains critères de l'étude peuvent avoir une influence comme la sélection de fermes souffrant d'un problème de diarrhée néonatale au détriment des fermes où aucun problème ne fut signalé (Mann et *al.*, 1986 ; Fayer et *al.*, 1998). Une étude sur 1321 bêtes montre une prévalence globale de 3,9 %, certains chercheurs trouveront que tous les veaux d'une ferme sont infectés à un moment donné (prélèvements répétés jusqu'à 120 jours d'âge) (O'Handley et *al.*, 1999).

2.2. Variation géographique et saisonnière :

L'étude de l'équipe d'Atwill effectuée en 1999 ainsi que celle de l'équipe de Heitman en 2002 montrent une variation saisonnière puisque les ookystes de *Cryptosporidium* sont plus abondants au printemps et en été sur les fermes bovines (Atwill et *al.*, 1999 ; Heitman et *al.*, 2002).

Plusieurs hypothèses ont été émises pour expliquer ce phénomène, notamment le fait que cette augmentation de prévalence coïncide avec la saison de vêlage, donc avec une

augmentation d'animaux dans l'âge à risque (Mann et *al.*, 1986 ; Atwill et *al.*, 1999 ; Heitman et *al.*, 2002 ; Villeneuve, 2003). Mais Mohammed .et Huetink établissent un risque accru au contraire durant l'hiver (Mohammed et *al.*, 1999 ; Huetink et *al.*, 2001). De plus, certains auteurs ne trouveront aucune incidence de la saison sur la prévalence (Wade et *al.*, 2000 ; Heitman et *al.*, 2002b). Aucun ookyste n'est retrouvé dans l'eau d'un réservoir du Massachusset aux États-Unis entre la mi-avril et la mi-octobre (sauf une exception en juillet) dans l'étude de Jellison, Hemond et Schauer effectuée en 2002. La majorité sont retrouvés à la fin de l'automne et au début du printemps lorsque la température de l'eau du réservoir est inférieure à 9°C, ce qui favorise la conservation des ookystes (Jellison et *al.*, 2002). Des facteurs comme le climat pourraient donc intervenir. L'étude de Heitman et ses collaborateurs supposent que les évènements de forte pluie pourraient avoir une incidence (Heitman et *al.*, 2002). La région géographique échantillonnée ne semble pas avoir d'influence sur la prévalence si on se fie à l'étude de Ruest, Faubert et Couture réalisée au Québec en 1998 (Ruest et *al.*, 1998).

2.3. Variation selon l'âge :

Peu importe l'âge des animaux, il est possible d'observer une certaine excrétion mais la prévalence est significativement plus importante chez les veaux en bas âge probablement en raison de l'immaturation du système immunitaire (Huetink et *al.*, 2001). Santin et ses collaborateurs ont étudié la cinétique d'excrétion de *Cryptosporidium* spp chez les bovins de 0 à 11 mois : il existe un pic du nombre de veaux excréteurs à l'âge de 2 semaines, puis un autre à 6 mois d'âge mais ce dernier est habituellement moins élevé (30,4 % vs 66,7 %) (Santin et *al.*, 2004).

Il semblerait également que le nombre d'animaux excréteurs commence à augmenter à nouveau entre 10 et 11 mois d'âge mais on ne peut savoir s'il s'agit d'un véritable troisième pic d'excrétion. Des génotypes différents de *Cryptosporidium* pourraient expliquer la présence de ces pics à des âges différents (Wade et *al.*, 2000). L'étude de Huetink et ses collaborateurs observent à peu près le même schéma d'excrétion: 3 pics d'excrétion selon l'âge. Un premier durant le premier mois d'âge, un second pendant le sixième mois et le dernier au cours du douzième mois. La prévalence la plus élevée est observée pour les veaux de 1 à 3 semaines d'âge avec 39,1 % et elle est assez faible après 18 mois (moins de 5 %) (Huetink et *al.*, 2001). Une étude de Faubert et Litvinski montre un pic d'excrétion de *C. parvum* en péripartum : la quantité d'ookystes excrétés chez les vaches parturientes (prélevés à partir de 1 heure post-partum et pendant 10 jours) comparativement aux vaches pré-partum (10 jours après

insémination et prélevées trois fois par semaine pendant 9 mois) ou post parturiente (à partir de 25 jours après le vêlage) est significativement plus élevée. Cette hausse de l'excrétion serait plutôt liée au stress qu'à l'âge de l'animal (Faubert & Litvinski, 2000).

2.4. Variation selon le type de production bovine (boucherie vs laitière) :

La prévalence globale chez les veaux de moins de 3 semaines n'est pas différente selon le type de production (boucherie vs laitière) mais il semblerait que le moment où la prévalence atteint un pic soit retardé chez les veaux de boucherie (Atwill et al., 1999 ; Heitman et al., 2002b). L'immunité passive conférée par le colostrum et le lait, riches en immunoglobulines, serait plus longue chez les veaux qui demeurent avec leur mère plus longtemps malgré une incertitude concernant le pouvoir de l'immunité passive via le colostrum pour *Cryptosporidium* (Atwill et al., 1999 ; Martin-Gomez et al., 2005 ; Schmidt & Kuhlenschmidt, 2008).

3. Modes de transmission :

3.1. Transmission verticale (mère à veau) :

Il est important de savoir s'il existe une transmission des mères aux veaux dans le but d'adopter ou non des mesures préventives autour du vêlage. Plusieurs études ont exploré cet aspect. Si l'étude de Faubert et Litvinsky émet l'hypothèse de la possibilité d'une telle transmission, d'autres s'opposent à ce point de vue (Faubert et Litvinski, 2000). Cela dépendrait finalement des espèces diagnostiquées aux différents âges. Wade, Huetink et Ralston ont identifié plus spécifiquement des ookystes de *C. muris* et ont conclu qu'il était impossible qu'une transmission mère à veau puisse avoir lieu sur cette base (Wade et al., 2000 ; Huetink et al., 2001 ; Ralston et al., 2003).

Toutes ces études employaient des méthodes de diagnostic microscopiques et il est connu que la discrimination des souches est limitée avec ces techniques.

L'étude de la transmission mère à veau passe inévitablement par une caractérisation génétique des souches aux différents âges. Ainsi, l'étude de l'équipe de Santin a permis de montrer qu'il y a peu de souches communes entre adultes et veaux (Santin et al., 2004). Une étude de l'équipe de Kanyari a permis de mettre en évidence la transmission transplacentaire de *Cryptosporidium parvum*. Il est donc possible pour une vache gestante ayant un système immunitaire affaibli de transmettre *Cryptosporidium parvum* au fœtus par la voie transplacentaire (Kanyari et al., 2002).

3.2. Transmission horizontale :

3.2.1. Veau à veau :

Selon certaines études, la possibilité de contact entre les veaux est un facteur significatif d'augmentation des infections chez les jeunes âgés de moins de trois mois (Sischo et *al.*, 2000). Par contre, d'autres trouveront qu'il n'y a pas d'influence significative du type de logement (en groupe ou individuel) sur le risque d'infection (Maldonado-Camargo et *al.*, 1998 ; Santin et *al.*, 2004).

3.2.2. Par des vecteurs externes animés :

Les travailleurs à la ferme pourraient représenter des vecteurs mécaniques de transmission entre les veaux. L'étude de l'équipe d'O'Handley le suggère alors que la prévalence est très forte dans une étable où le contact entre les veaux est impossible (O'Handley et *al.*, 1999).

Klesius et ses collaborateurs montrent que les souris présentes dans les bâtiments d'élevage bovins pourraient jouer le rôle de réservoir pour les jeunes animaux de l'étable. Ils ont inoculé 7 veaux avec les matières fécales de souris porteuses et excrétrices attrapées dans le même élevage. Tous les veaux montrèrent des signes cliniques compatibles avec la cryptosporidiose et excrétèrent des ookystes. Ainsi, les souris pourraient non seulement assurer la transmission de l'infection d'un veau à un autre mais également maintenir cette infection car les souris excrètent en moyenne les ookystes plus longtemps que les jeunes bovins (Klesius et *al.*, 1986).

Les rongeurs sont généralement attirés par la moulée entreposée pour les animaux de ferme et peuvent ainsi la contaminer. L'eau donnée aux animaux peut également être contaminée par les fèces de rongeurs porteurs de *Cryptosporidium* (Quy et *al.*, 1999). La transmission par des insectes vecteurs comme les mouches (diptères) ou les bousiers (coléoptères coprophages), bien que considérée mineure, a aussi été étudiée. L'équipe de Clavel a trouvé *C. parvum* sur 18 % des mouches d'une ville où les infections à *Cryptosporidium* sont connues chez les bovins (Clavel et *al.*, 2002).

Les mouches porteraient les ookystes aussi bien dans leur tractus digestif que sur leur cuticule (Szostakowska et *al.*, 2004). Elles pourraient transporter jusqu'à 1000 ookystes capables d'infecter des souris pour un minimum de 3 semaines (Graczyk et *al.*, 2000). Szostakowska et ses collaborateurs ont montré que les mouches capturées aux alentours des fermes portaient beaucoup plus de *Cryptosporidium* que celles retrouvées ailleurs, notamment dans les villes (Szostakowska et *al.*, 2004). Les insectes se nourrissant de matières fécales comme les bousiers ont aussi le potentiel de transporter des ookystes (Mathison et Ditrich, 1999).

3.2.3. Par des vecteurs externes inanimés :

Des échantillons pris sur du fumier sec ramassé à l'intérieur de l'étable, dans des enclos de vèlage et à partir des poussières prises de 3 à 6 mètres du sol (fenêtres, mangeoires et poutres) montrent une grande contamination de *Cryptosporidium* dans l'environnement des vaches et, contrairement aux résultats de l'étude de l'équipe de Huetink (Huetink et al., 2001), les échantillons pris sur les murs et le sol des huttes de veaux sont en grande partie positifs à *Cryptosporidium parvum* (Atwill et al., 1998 ;Faubert & Litvinski, 2000 ; Barwick et al., 2003). De nombreuses études montrent l'omniprésence de *Cryptosporidium parvum* dans l'eau en général qu'elle soit potable ou non (Mathison & Ditrich, 1999).

Même si le parasite peut infecter l'homme à partir d'un animal excréteur, la majorité des épidémies humaines rapportées dans la littérature sont le résultat de l'ingestion d'eau contaminée (Takagi et al., 2008).

Pour Huetink et ses collaborateurs, l'eau de pluie, en ruisselant à partir de fumier contaminé, serait un vecteur potentiel de contamination entre les veaux (Huetink et al., 2001). L'équipe de Heitman a montré en 2002 que l'eau de consommation pour les animaux est à considérer dans la transmission des ookystes : les fermes où l'approvisionnement est l'eau de pluie sont plus à risque de contamination. De plus, l'accès direct des animaux à l'eau de rivière est un facteur de risque alors que l'eau d'un puit serait moins souvent contaminée (Heitman et al., 2002).

4. Facteurs de risques :

4.1. Exposition en bas âge :

L'exposition en bas âge demeure le principal facteur de risque de voir apparaître la diarrhée chez les bovins. De plus, il a été montré que plus l'infection survient tôt dans la vie du veau, plus l'excrétion est prolongée (Castro-Hermida et al., 2002).

4.2. Densité animale :

Le nombre de vaches laitières dans une étable tout comme le nombre d'animaux de ferme autres que des bovins sont des facteurs de risque importants (Quigley et al., 1994 ; Mohammed et al., 1999). De même, Kvac et Vitotec trouvent une prévalence plus élevée de *Cryptosporidium andersoni* lorsque les vaches sont à l'étable plutôt qu'au pâturage (Kvac et Vitovec, 2003). Certains chercheurs ont trouvé que les fermes ayant une densité d'animaux élevée étaient moins à risque mais une meilleure hygiène pourrait fausser l'interprétation de ces résultats (Castro-Hermida et al., 2002).

4.3. Type de sol et nettoyage :

Les mauvaises conditions de salubrité augmentent significativement le risque de cryptosporidiose. Castro-Hermida, González-Losada et Ares-Mazàs définissent trois facteurs de risque : la méthode de nettoyage, la fréquence de nettoyage ainsi que le type de sol ; même si le produit utilisé n'est pas précisé, le simple fait de désinfecter diminue significativement le risque (Heitman et *al.*, 2002b). La fréquence de nettoyage est également importante. Si les stalles sont lavées une seule fois par mois, les veaux peuvent être jusqu'à deux fois plus à risque d'être infectés comparativement à si on les nettoie quotidiennement (Castro-Hermida et *al.*, 2002).

La litière semble avoir également beaucoup d'influence. Les animaux logés sur de la paille avec un sol en terre ont plus de risque d'être infectés que ceux vivant sur le ciment. La terre et la paille conservent beaucoup mieux l'humidité que les sols en ciment ce qui permet une meilleure survie du parasite (Maldonado-Camargo et *al.*, 1998).

De plus, il est possible de désinfecter un plancher de ciment et cela diminue les risques de contamination de 62 % (Castro-Hermida et *al.*, 2002). Le balayage est aussi un facteur de risque important en permettant le transport des ookystes d'une stalle à l'autre (Maldonado-Camargo et *al.*, 1998). La majorité des désinfectants comme ceux à base de chlore ne sont pas reconnus efficaces pour éliminer *Cryptosporidium* de l'environnement (Naciri et *al.*, 2011).

4.4. Type de logement :

Le type de logement (individuel ou en groupe) ne semble pas avoir d'effet significatif sur le risque d'infection. Les vecteurs de transmission animés et inanimés pourraient expliquer en bonne partie cette absence de différence entre les types de logement (Maldonado-Camargo et *al.*, 1998 ; Santin et *al.*, 2004).

4.5. Prise de colostrum :

Dans une étude de Tzipori et collaborateurs sur des veaux diarrhéiques, la plupart des veaux étaient hypoglobulinémiques. On pourrait supposer que la prise de colostrum serait un facteur de protection face à *Cryptosporidium* (Tzipori et *al.*, 1983). Le fait d'administrer du colostrum frais plutôt que congelé diminue l'incidence de la maladie (Mohammed et *al.*, 1999). D'autres trouveront que le colostrum n'offre aucune protection face à la cryptosporidiose (Harp et *al.*, 1990 ; Quigley et *al.*, 1994). Une étude de Baillargeon en 2004 a même montré que le colostrum bovin pouvait être contaminé par *Cryptosporidium parvum* et devenir, paradoxalement, une source d'infection pour le veau naissant (Baillargeon, 2004). Cependant, administrer un colostrum hyperimmun bovin permet de diminuer le temps d'excrétion (6,2 jours en moyenne

contre 8,5 jours), la durée de l'épisode de diarrhée (2,3 jours contre 5 jours) et le nombre d'ookystes excrétés par rapport à un colostrum normal (Fayer et *al.*, 1989).

4.6. Alimentation :

Le fait de donner de la moulée serait un facteur de risque à cause d'une contamination par les fèces de rongeurs ou en raison d'une trop grande perturbation de la microflore intestinale au moment du sevrage des veaux (Maldonado-Camargo et *al.*, 1998). Les veaux nourris au lait reconstitué sont 5 fois moins à risque que ceux nourris au lait naturel dont les risques de contamination sont beaucoup plus élevés (Mohammed et *al.*, 1999). L'eau aussi peut être contaminée puisque la désinfection de l'eau, généralement à base de chlore, est inefficace pour éliminer complètement les ookystes (Villeneuve, 2003).

Partie expérimentale

I. matériel et méthode

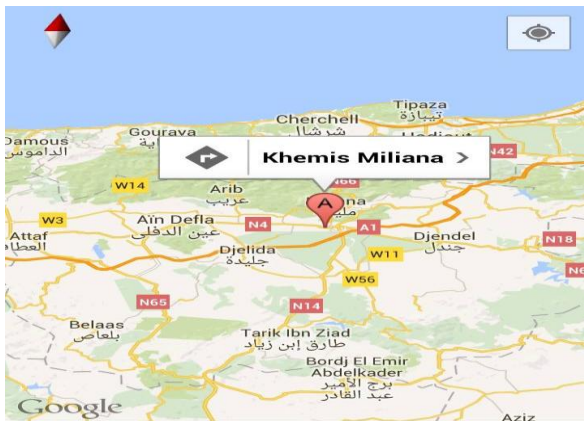
Notre étude a été réalisée dans la wilaya de Blida et Ain-Defla sur une période allant du 25 octobre 2015 jusqu'au 21 novembre 2015.

1. Objectifs :

Le but de notre travail est de répertorier les nouveaux cas afin de déterminer l'incidence de la cryptosporidiose dans les élevages visités et d'évaluer la prévalence.

2. Région d'étude :

Trois fermes ont été concernées par notre étude. Il s'agit de deux fermes "Digimex" et "Brazi" situées à Beni Tamou (Blida) (voir figure 03 et photo 01, 02) et une autre ferme située à Khemis Miliana (Ain-Defla) de la "Laiterie Waniss" (Voir Figure 02 et Photo 03), appartenant au secteur privé à vocation laitière avec les races prim'Holstein (Pie-noire, Pie rouge), Montbéliarde, Fleckveih, Brune de l'atlas, Normande, Abondance et des races croisées.



Figures 02 & 03: Situation géographique des trois fermes (Khemis Miliana et Beni Tamou) (Anonyme 4, 2015)



Photo 01 : Ferme Digimex.



Photo 02 : Ferme Brazi.



Photo 03 : Ferme de la laiterie Waniss.

3. Description des élevages :

Tableau IV : Répartition des élevages.

Fermes	Effectif des fermes	Type de stabulation	Type de production	Nombre de male	Nombre de femelle
Digimex (01)	16	entravée	laitière	1	15
Brazi (02)	61	entravée	laitière	10	51
Laiterie Waniss (03)	273	libre	laitière	38	235



Photo 04: Parcage collectif des veaux (Ferme 01).



Photo 05 : Parcage collectif des veaux (Ferme 02).



Photos 06: parcage individuel (Ferme 03).



Photos 07 & 08 : l'état d'hygiène dans la ferme 03.



Photos 09 & 10 : l'état d'hygiène dans les fermes 01 et 02.

4. Matériels : (Annexe 01).

5. Méthodes :

Une analyse coprologique a été effectuée sur 350 bovins âgés de 5 jours à 14 ans pour la recherche des oocystes de *Cryptosporidium* sp.

5.1. Récolte des échantillons :

Deux types de prélèvement de fèces ont été réalisés :

- directement du rectum des animaux, à l'aide de gants (adulte) ou en stimulant l'anus avec l'index de la main gantée (veaux), puis déposés dans des flacons en plastique numérotés.
- à partir du sol où on a récolté 5 échantillons, de différents coins de chaque ferme.

Ces échantillons ont été placés immédiatement dans une glacière isotherme et acheminés le jour même au laboratoire de l'institut vétérinaire pour analyse.

Une fiche de renseignement a été remplie pour chaque animal concernant l'exploitation, la date de prélèvement, la race, le sexe, l'âge. (Annexe 02).

5.2. Méthode de coloration des oocystes :

Les échantillons fécaux ont été testés par la technique de concentration de Ritchie simplifiée par Allen et Ridley (1970), suivie par la coloration de Zeihl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz.

5.2.1. Technique de concentration de Ritchie simplifiée par Allen et Ridley (1970) :

La technique de concentration a pour but de réunir dans un faible volume, des parasites dispersés dans une masse de selle (Achir & Hamrioui, 2010).

5.2.1.1. Procédure :

- Avec un agitateur en verre délayer progressivement les selles dans 2 à 3 fois leur volume avec le formol à 10% (photo 11).
- Laisser sédimenter quelque minute jusqu'à l'obtention d'un surnageant dépourvu de débris (photo 12).

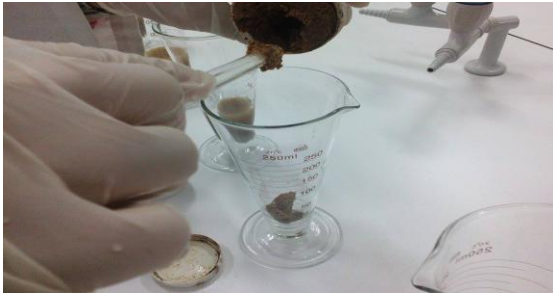


Photo 11



Photo 12

- Décanter le surnageant dans 2 tubes coniques de 15 ml pour chaque verre à pied pour augmenter la chance de trouver le parasite.
- Ajouter de l'éther : le 1/3 du volume décanté (photo 13).
- Laisser un espace d'environ 1 cm de l'ouverture du tube qui permet l'émulsion des matières fécales pendant l'agitation (photo 14)
- Boucher le tube et agiter énergiquement de façon à obtenir un liquide homogène.
- Centrifuger 5mn à 2500 tours/mn (photo 15).

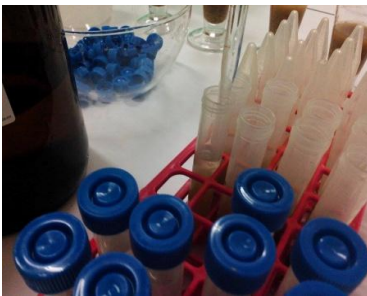


Photo 13

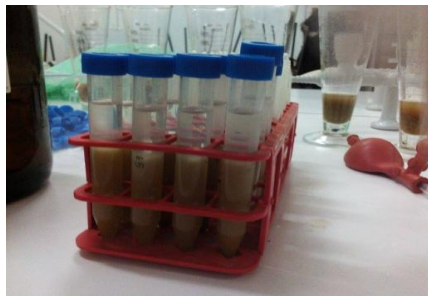


Photo 14



Photo 15

- Après la centrifugation, on obtient 4 couches qui sont du haut vers le bas (photo 16) :
 - Une couche d'éther de couleur jaune constituée de graisse.
 - Un anneau constitué de gros débris.
 - une couche aqueuse.
 - Et le culot dans lequel sont concentrés les éléments parasites
- Jeter le surnageant constitué par les trois couches supérieures et garder le culot.
- Á l'aide d'une pipette pasteur, mélanger bien le culot. (photo 17).
- Etaler le frottis à l'aide d'une lame (photo 18).
- Fixer au méthanol pendant 5 minutes.

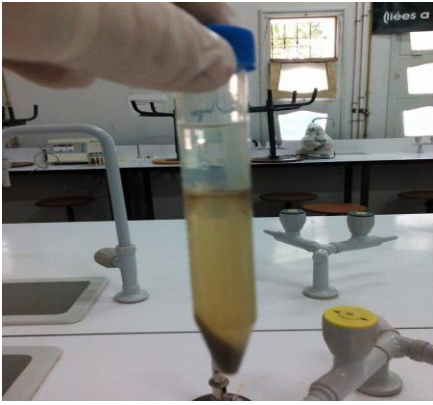


Photo 16

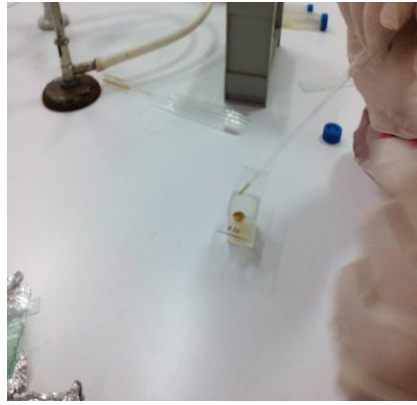


Photo 17

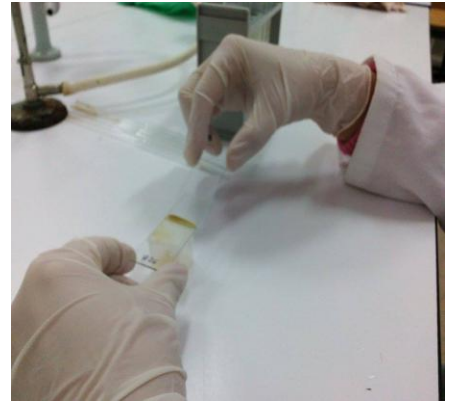


Photo 18

5.2.2. Technique de coloration de Ziehl Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz :

5.2.2.1. Procédure :

- Colorer le frottis dans la solution de la fushine de Ziehl pendant une (01) heure (photo 19).
- Rincer à l'eau du robinet (photo 20).
- Différencier dans de l'acide sulfurique à 2% pendant quelques secondes (photo 21).
- Rincer à l'eau du robinet (photo 20).
- Contre colorer avec du vert de malachite pendant dix (10) minutes (photo 22).
- Rincer à l'eau du robinet (photo 20).
- Laisser sécher et observer au microscope optique (photo 23).

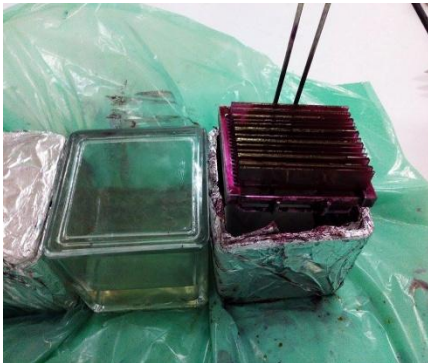


Photo 19



Photo 20



Photo 21

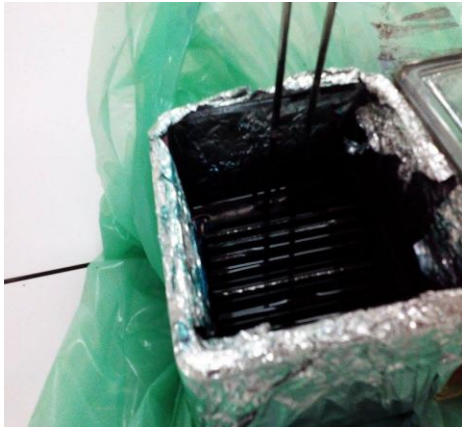


Photo 22



Photo 23

5.2.2.2. Lecture :

La lecture se fait au microscope optique à l'objectif G x 40 puis G x 100, avec de l'huile à immersion à l'objectif G x100 en mettant au point sur le coin supérieur gauche, puis en déplaçant la lame régulièrement d'avant en arrière ou de haut en bas afin d'examiner la lame dans son entière façon systématique (Figure 04).

Début

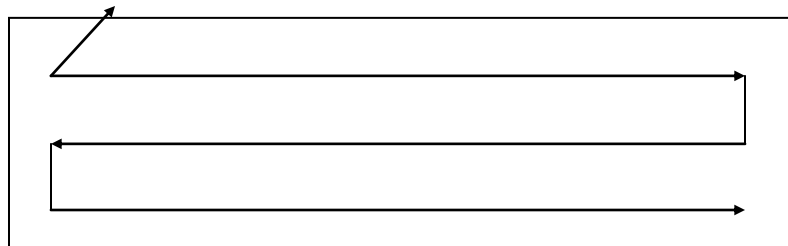


Figure 04 : Technique de la lecture des lames.

Les oocystes de *Cryptosporidium* spp. sont colorés en rouge sur un fond vert pâle. Le degré et la proportion de couleur varient avec les oocystes. En outre, les structures internes prennent le colorant de façon variable. Certains peuvent apparaître vides alors que d'autres peuvent contenir les éléments en croissant caractéristiques des sporozoïtes (Photos 24,25). Les oocystes de *C. parvum* apparaissent sous la forme de disques de 4 à 6 μm de diamètre. Les levures et les débris fécaux se colorent en rouge terne. Certaines spores de bactéries peuvent également se colorer en rouge mais elles sont trop petites pour prêter à confusion (Anonyme 2, 2005).

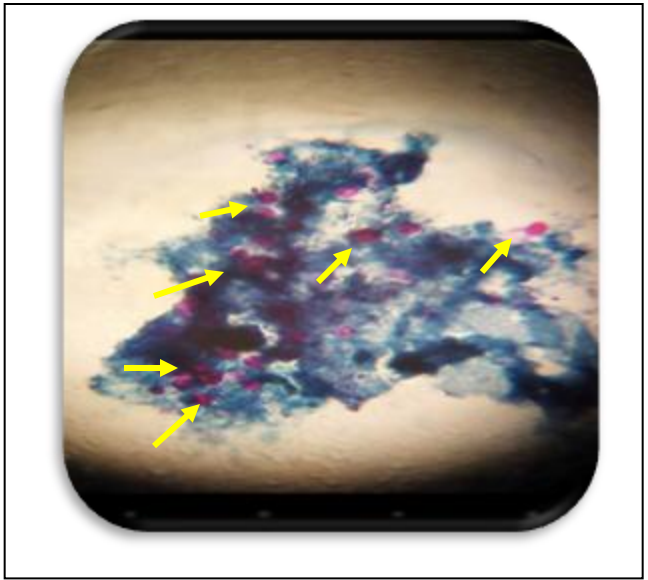
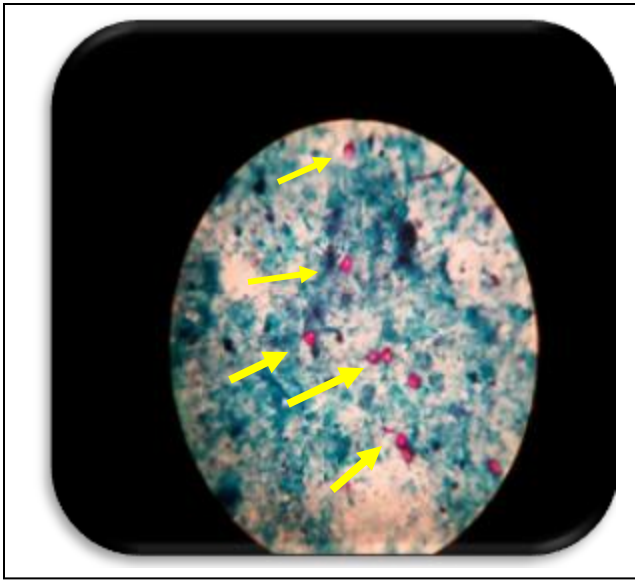


Photo 24 & 25: Oocystes de *cryptosporidium sp* observés au microscope optique G x 100 (photos personnelles).

II. Résultats et discussion

1. Résultats :

Tableau V : Répartition des cas positifs et négatifs après coloration.

Nombre de prélèvements	Cas positifs	Cas négatifs
350	301	49
Fréquence (%)	86%	14 %

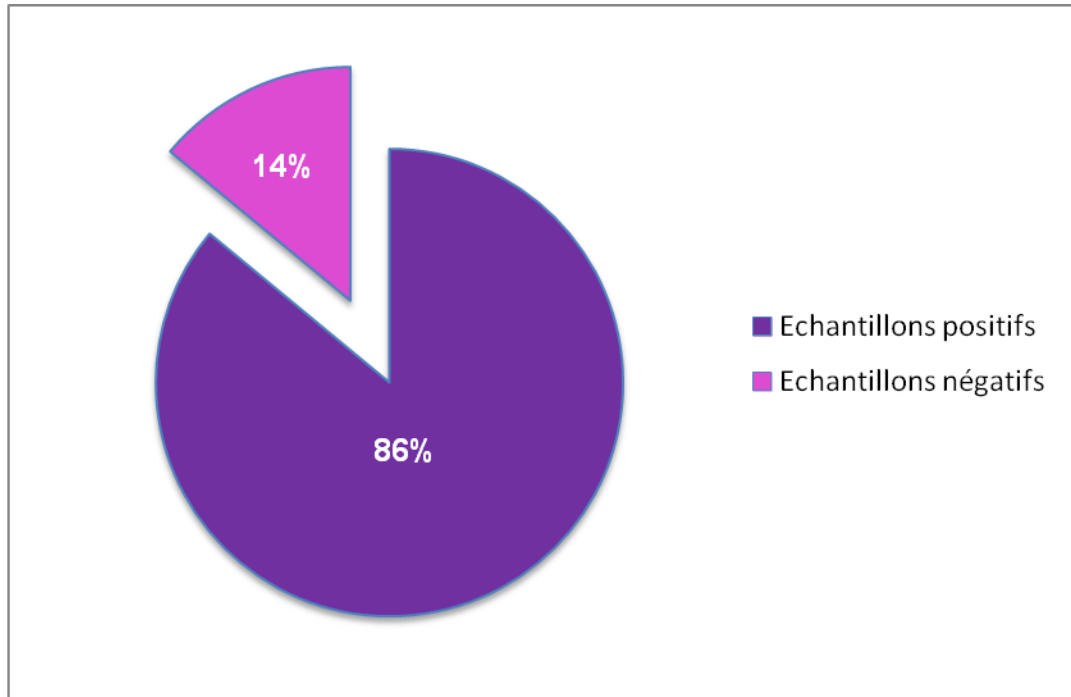


Figure 05: Répartition des cas positifs et négatifs.

L'examen coprologique de 350 prélèvements a révélé la présence des oocystes de *Cryptosporidium sp* dans 86.74% des cas.

Tableau VI : résultat de coloration par rapport aux différentes fermes :

Fermes	Echantillons positifs		Echantillons négatifs	
	Nombre	Fréquence %	Nombre	Fréquence %
Digimex (1)	13	81.25 %	03	18.75 %
Brazi (2)	58	95.08 %	03	4.92%
Laiterie Waniss (3)	230	84.25 %	43	15.75 %

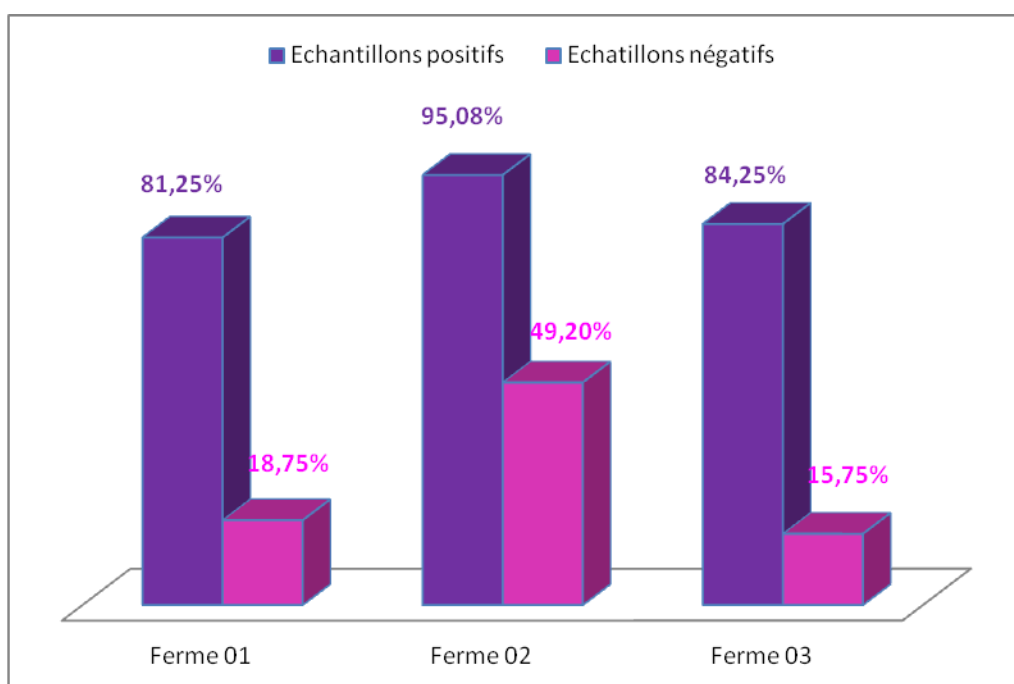


Figure 06: Répartition des cas positifs et négatifs dans les 03 élevages .

La figure 06 présente la répartition des cas positifs et négatifs dans chaque ferme visitée avec un taux de 95.08% de cas positifs observés dans la ferme 02 et des taux de 81.25% et 84.25% de cas positifs observés dans les fermes 01 et 03 respectivement.

Tableau VII : Fréquence de l'infection par *Cryptosporidium sp* en fonction du sexe.

Fermes	Echantillons positifs				Echantillons négatifs			
	Femelles		Mâles		Femelles		Mâles	
	Nombre	Fréquence %	Nombre	Fréquence %	Nombre	Fréquence %	Nombre	Fréquence %
(1)	12	80 %	01	100%	03	20%	00	00%
(2)	48	94.12%	10	100%	03	5.88%	00	00%
(3)	194	82.55%	36	94.74%	41	17.45%	02	5.26%

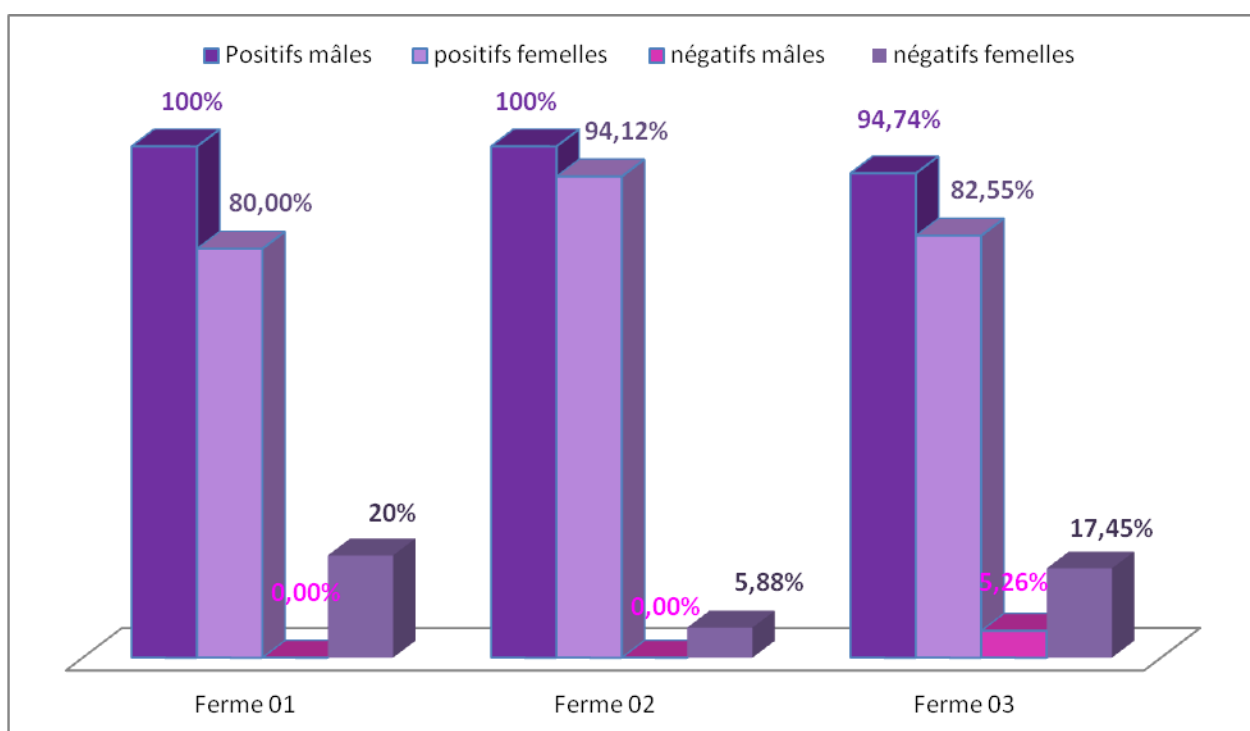


Figure 07 : Fréquence de l'infection par *Cryptosporidium sp* en fonction du sexe. Le résultat obtenu indique que les deux sexes sont touchés avec une prédominance chez les mâles observée dans les trois fermes.

Tableau VIII : Fréquence de l'infection par *Cryptosporidium sp* en fonction de l'âge.

Age	Echantillons Positifs		Echantillons Négatifs	
	Nombre	Fréquence %	Nombre	Fréquence %
<1 mois	12	92.31%	01	7.69%
1 mois -1an	72	92.31%	06	7.69%
> 1 an	217	83.78%	42	16.22%

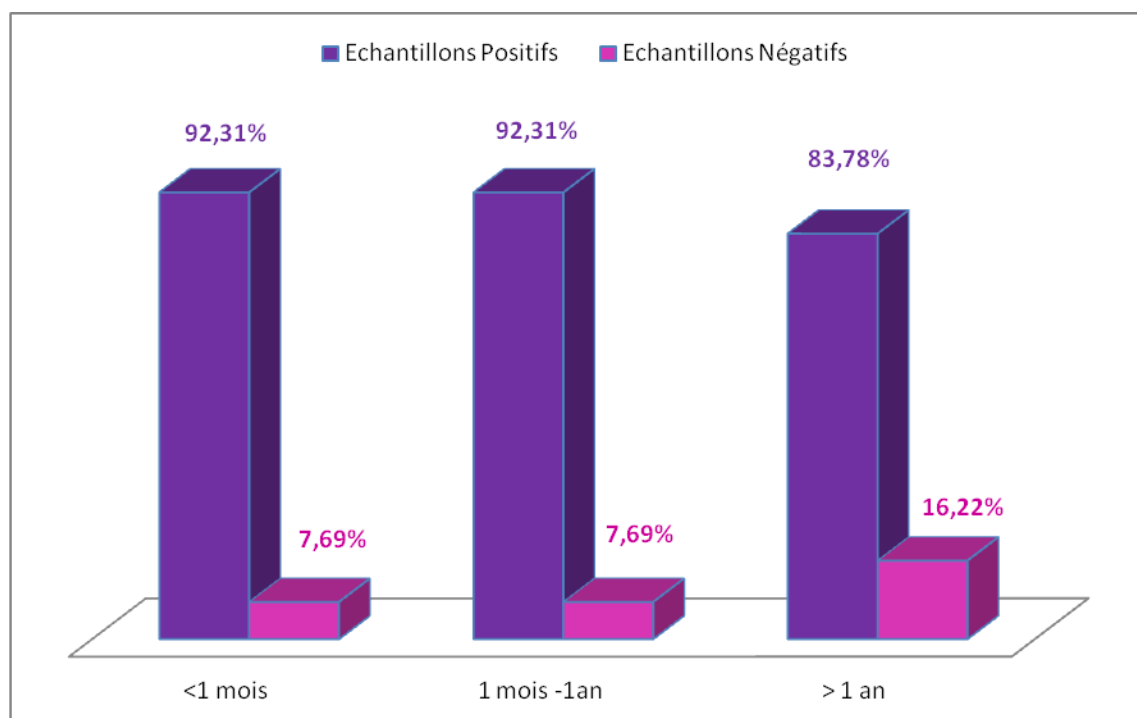


Figure 08 : Fréquence de l'infection par *Cryptosporidium sp* en fonction de l'âge.

La présence des cryptosporidies a été relevée pratiquement dans toutes les tranches d'âge, particulièrement chez les veaux âgés de moins d'un an avec un taux de 92.31%.

Tableau IX : Détermination de la fréquence de l'infection par *Cryptosporidium sp*, en fonction de la consistance des prélèvements.

Consistances	Echantillons positifs		Echantillons négatifs	
	Nombre	Fréquence (%)	Nombre	Fréquence (%)
Diarrhéique	06	85.72%	01	14.28%
Non Diarrhéique	295	86.01%	48	13.99%

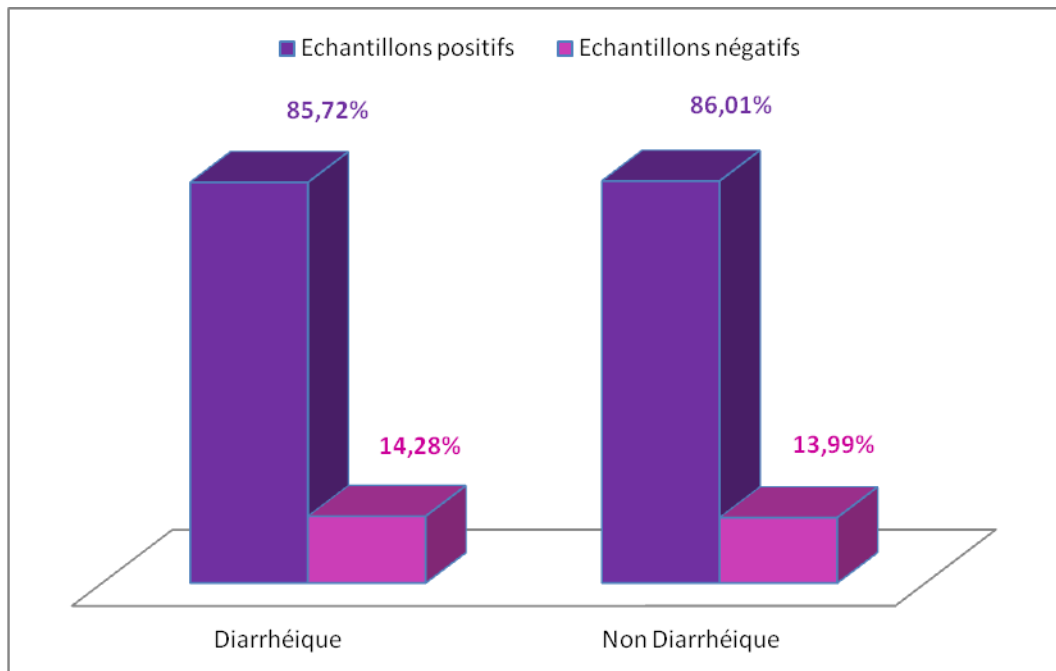


Figure 09 : Détermination de la fréquence de l'infection par *Cryptosporidium sp* en fonction de la consistance des prélèvements.

L'étude montre l'existence du parasite chez les sujets diarrhéiques et non diarrhéiques, avec des taux 85.72% et 86.01% respectivement.

2. Discussion :

A l'issue de cette étude, la présence du parasite est relevée dans tous les sites étudiés à des proportions variables (Tableau VI). Ainsi, la valeur de la prévalence du parasite dans les unités d'élevages est estimée à 86%.

Pour le facteur sexe, nous avons remarqué que les males semblent être plus touchés que les femelles. Selon Noordeen et *al.*, (2002), le sexe n'est pas un facteur de réceptivité lors de la cryptosporidiose.

La cryptosporidiose est une maladie du jeune animal, elle se manifeste principalement chez les veaux âgés de 4 à 30 jours (ALAIN, 2003). Les résultats de notre étude prodiguent une prévalence élevée chez les veaux âgés de moins d'un an avec deux pics, un chez les veaux de moins de 1 mois et un autre chez les veaux âgés de 1 mois à 1 an (Figure 08).

Nous avons constaté une réceptivité particulière du veau à *Cryptosporidium sp* les premières semaines de sa vie. Certains auteurs rapportent cette réceptivité des jeunes à leur état immunitaire déficient les premiers jours. La prise du colostrum à ce niveau jouant un rôle important (Navin & Juranek, 1984), ne serait ce que dans l'expression clinique de la diarrhée (Tzipori et *al.*, 1980). À l'issue de la première semaine, et tout au long de la deuxième et de la troisième, se situe la période d'excrétion maximale. Ce qui explique la forte positivité durant cette période, ceci rejoint plusieurs travaux de la littérature (Atwill et *al.*, 1998 ; De La Fuente et *al.*, 1999). Si, au cours de cette même période les animaux paraissent plus réceptifs, il n'en demeure pas moins que c'est à ce moment qu'ils développent leur immunité ce qui explique à la fois leur très forte excrétion pendant cette période et sa diminution à partir d'un mois d'âge, excrétion très souvent discrète (Mac Cluskey et *al.*, 1995 ; Olson et *al.*, 1997), ce qui ne convient pas à nos résultats ou l'excrétion a persisté même après 1 mois d'âge, qui semble être due aux mauvaises conditions d'hygiènes, nous avons remarqué que l'état d'hygiène des trois fermes visitées étaient défavorables (voir photos 07, 08, 09, 10), de même pour le parcage des veaux était de l'individuel pour la ferme et collectif (voir photos 04, 05, 06).

Les individus adultes restent la plupart du temps des porteurs asymptomatiques (Ramirez et *al.*, 2004). Dans notre travail, les adultes se sont révélés excréteurs asymptomatiques d'oocystes de *Cryptosporidium spp.* et aucun animal n'a été signalé comme présentant des diarrhées. Toutefois, la prévalence relativement élevée de l'infestation chez les adultes avec un taux de 83.78% probablement ceci est due au stress du vêlage, à la mauvaise conduite du tarissement et à un milieu fortement souillé par les cryptosporidies et à des conditions d'hygiène très

souvent déplorables. Les travaux effectués par (Henriksen & Krogh, 1985) au Danemark, et (Villacorta *et al.*, 1991b) en Espagne aboutissent aux mêmes résultats; et c'est pour cette raison qu'il est très important de ne pas mélanger des animaux d'âges différents pour éviter la pérennisation de l'infection.

Concernant la fréquence d'isolement du parasite chez les veaux diarrhéiques et non diarrhéiques, Plusieurs auteurs ont signalé une prévalence plus élevée du parasite dans les fèces d'animaux diarrhéiques (Castro-Hermida *et al.*, 2002b, Lefay *et al.*, 2000). Dans notre étude nous n'avons pas constaté une grande différence par rapport à la consistance ceci revient à la forte infestation, ou les animaux ne présentent pas des signes cliniques mais demeurent des excréteurs asymptomatiques. Ce qui pourrait être lié à la plus grande concentration des vèlages dans le temps qui serait responsable d'une contamination massive des veaux via les oocystes préexistant dans les boxes (ou les locaux) et à ceux nouvellement libérés par les jeunes et/ou les adultes mais également à la grande promiscuité qui en résulte sans oublier l'état d'hygiène déficiente. L'effet du type de logement sur la morbidité est assez variable selon les études, elle était moins importante chez les veaux de 1 à 7 jours élevés en logement individuel (OLSSON *et al.*, 1993) ; et plus élevée dans les élevages où les veaux étaient logés en case individuelle par rapport aux élevages où les veaux sont logés en niche (WALTNER-TOEWS *et al.*, 1986).

Un autre facteur joue un rôle important dans la dissémination du parasite, il s'agit de la litière .Dans toutes les fermes visitées, les résultats des échantillons prélevés à partir du sol ont présenté au moins un oocyste. Il n'existe pas non plus de système de désinfection efficace de l'environnement.

La contamination de l'environnement peut contribuer à maintenir un niveau endémique de la maladie pour la population (Naciri M, 1992). Euzeby constate que les Cryptosporidies gardent leur pouvoir infectant de 4 à 12 mois, voir 18 mois sur les sols humides (Euzeby, 2002).

.

Recommendations

Les *observations* de terrain réalisées dans le cadre de *cette étude*, ont permis de mettre en évidence certaines pratiques d'élevages qui seraient aisément modifiables et qui amélioreraient la gestion et l'hygiène des élevages et donc mèneraient à des morbidités et mortalités moins importantes. Il s'agit principalement ;

L'hygiène du vêlage. Les éleveurs doivent accorder assez d'importance à la propreté des lieux de vêlage et des matériels de vêlages, qui devraient être nettoyés et désinfectés entre chaque vêlage. De même l'hygiène des éleveurs assistant les vaches au vêlage reste à améliorer, un lavage des mains avant et après le vêlage, ainsi que le port de gants de vêlage à utilisation unique se révèlent être des pratiques encore peu répandues.

De plus, les éleveurs doivent accorder assez de temps aux veaux en post-natalité immédiate, la gestion de l'administration du colostrum devrait être prise en main avec nettoyage des trayons de la mère, traite, contrôle de la qualité du colostrum et administration au veau à l'aide d'un biberon ou d'une sonde d'une quantité adéquate de colostrum, ou, à défaut, de colostrum pris dans la réserve de colostrum (dont la mise en place est fortement conseillée afin de pallier tout soucis si une vache n'a pas de colostrum ou si la qualité est insuffisante). Il est important également de pallier le problème des veaux voleurs, en séparant les vaches ayant vêlé des autres.

L'utilisation du logement individuel est recommandée pour les veaux de moins de 15 Jours et interdite pour les veaux de plus de 8 semaines. L'utilisation d'un système léger et démontable facilite le nettoyage des logements et assure une bonne prévention sanitaire lors de l'introduction de nouveaux veaux.

Bien entendu, une bonne hygiène de l'environnement est préconisée, avec une désinfection et un vide sanitaire à effectuer chaque année.

Conclusion

L'objectif de notre étude est de connaître l'incidence des cryptosporidies dans les 03 élevages laitiers et estimer le rôle de certains facteurs prédisposant l'infestation parasitaire tels que l'âge, le sexe, la consistance des fèces.

À la lumière des résultats obtenus la Cryptosporidiose montre une morbidité élevée dans les fermes visitées avec une prévalence de 86%.

Le parasite a été isolé chez des sujets diarrhéiques et non diarrhéiques, jeunes et adultes, males et femelles.

Notre étude n'a pas épargné l'importance du sol dans la pérennité de la maladie et qui restera le facteur le plus incriminé, La résistance des oocystes dans le milieu extérieur (sporulation in situ) et leur caractère auto-infectieux, rend difficile une lutte contre cette maladie.

D'autres facteurs tels que les mauvaises conditions d'hygiène, la promiscuité et le mélange des animaux de différents âges semblent avoir un rôle dans la contagiosité.

L'étude a fait ressortir que la Cryptosporidiose occasionne des pertes en termes de morbidité, de mortalité et de coûts de traitement chez les animaux atteints de cette maladie.

Références bibliographiques

- Abrahamsen M.S.** (1998) « Bovine T cell responses to *Cryptosporidium parvum* infection. » International Journal for Parasitology, 28, 1082-8.
- Achir I., Hamrioui B.** (2010) « La coprologie parasitaire » Edition pirate, grand cours institut pasteur de d'Algérie.
- Adams R.B., Guerrant R.L., Zu S., Fang G., Roche J.K.** (1994). «*Cryptosporidium parvum* infection of intestinal epithelium: morphologic and functional studies in an *in vitro* model. » J Infect Dis 169, 170-177.
- ALAIN V.** (2003) «Les zoonoses parasitaires : l'infection chez les animaux et chez l'homme. » Montréal, Québec, Canada, Presses de l'université de Montréal, 500 p.
- Anderson B.C.** (1998) «Cryptosporidiosis in bovine and human health. » Journal of Dairy Science. 81, 3036 - 41.
- Angus K.W.** (1990) « Cryptosporidiosis in ruminants ». In: Cryptosporidiosis in man animals. Editions: Dubey J.P., Speer C.A and Fayers R. CRC Press Boca Raton, Florida, USA. 83-103,
- Anonyme 1** (consultation le 22/05/01) «*Cryptosporidium/* coccidial/ parasitology/ research, (en ligne).» Division of biology, Kansas state university Adresse URL <http://www.ksu.edu/parasitology/>
- Anonyme 2** (2005) «CRYPTOSPORIDIOSE» Manuel terrestre de l'OIE, chapitre 2.10.9.
- Anonyme 3** (2006) «Guidelines for drinking-water quality» O.M.S. www.who.int/water_sanitation_health/dwg/gdwg3rev/en/index.html.
- Anonyme 4** (2015) «Situation géographique des trois fermes (Khemis Miliana et Beni Tamou) <https://www.google.dz/maps/> .
- Atwill E.R., Harp J.A., Jones T., Jardon P.W., Checel S., Zylstra M.** (1998) «Evaluation of periparturient dairy cows and contact surfaces as a reservoir of *Cryptosporidium parvum* for calfhood infection.» Am J of Vet Res. 59(9):116-21.
- Atwill E.R., Johnson .E, Klingborg D.J., Vesperat G.M., Markegard G., Jensen W.A., Pratt D.W., Delmas R.E., George H.A., Forero L.C., Philips R.L., Barry S.J., McDougald N.K., Gildersleeve R.R.** (1999) « Frost WE Age, geographic and temporal distribution of fecal shedding of *Cryptosporidium parvum* oocysts in cow-calf herds». Am J Vet Res. 60(4):420-5.
- Baillargeon J.** (2004) «Étude de la contamination du colostrum bovin par des oocystes de *Cryptosporidium parvum*.» Université de Montréal 196 pp.

- Barwick R.S., Mohammed H.O., White M.E., Bryant R.B.** (2003) «Factors associated with the likelihood of *Giardia* spp. and *Cryptosporidium* spp. in soil from dairy farms. » *J of Dairy Sci.* 86:784-91.
- Buret A., Gall D.G., Nation P.N., Olson M.E.** (1991) «Intestinal protozoa and epithelial cell kinetics, structure and function. *Parasitol Today*». 7(6): 141.
- Casey D.P.** (1991) «Laboratory methods for diagnosing cryptosporidiosis. » *Journal of clinical pathology*, 44, 445-451.
- Castro-Hermida J.A., Yolanda A., González-Losada Y.A., Mercedes M-M., Ares-Mazàs E.** (2002) « A study of cryptosporidiosis in a cohort of neonatal calves.» *Vet Parasitol.* 106:11-7.
- Castro-Hermida J.A., González-Losada Y.A., Aresmazas E.** (2002b) «Prevalence and risk factors involved in the spread of neonatal bovine cryptosporidiosis in Galicia (NW Spain). » *Vet. Parasitol.*, **106**: 1-10.
- Certad G.** (2008) « De la caractérisation génétique et phénotypique de *Cryptosporidium* (Alveolata : Apicomplexa) à la mise en évidence du rôle de *C. parvum* dans l'induction de néoplasie digestive.» *Life Sciences. Université du Droit et de la Santé - Lille II, French.*
- Cevallos A.M., Zhang X., Waldor M.K., Jaison S., Zhou X., Tzipori S., Neutra M.R., Ward H.D.,** (2000) «Molecular cloning and expression of a gene encoding *Cryptosporidium parvum* glycoproteins gp40 and gp15.» *Infect Immun* 68, 4108-4116.
- Chambon F.** (1990) «*La cryptosporidiose du chevreau enquête et essai thérapeutique*» *Thes.Med.Vet., Nantes*, 145 p.
- Chartier C.** (2001) «Epidémiologie de la cryptosporidiose» In -entérites néonatales des ruminants-, *Le Point Vétérinaire*, n°212, 30-34,
- Chartier C.** (2002) « La cryptosporidiose des petits ruminants.» *Le point vétérinaire Pathologie ovine et caprine*, 118-122.
- Chartier C., Mallereau-Pellet M.P., Mancassola R., Nussbaum D.** (2002) «Détection des ookystes de *Cryptosporidium* dans les fèces de caprins : comparaison entre un test d'agglutination au latex et trois autres techniques conventionnelles.» *Veterinary research*, 33 (2), 169-177.
- Chen, X.M., Gores, G.J., Paya, C.V., LaRusso, N.F.,** 1999. «*Cryptosporidium parvum* induces apoptosis in biliary epithelia by a Fas/Fas ligand-dependent mechanism. »*Am J Physiol* 277, G599-608.

- Clavel A., Doiz O., Santiago M., Varea M., Seral C., Castillo F.J., Fleta J., Rubio C., Gomez-Lus R.** (2002) « House fly (*Musca domestica*) as a transport vector of *Cryptosporidium parvum*.» *Folia Parasitol.* 49:163-4.
- Current W.L., Garcia L.S.** (1991) «Cryptosporidiosis.» *Clin Lab Med* 11, 873-897.
- Daignault A., Bourassa R., Moreau J.** (2009) « la diarrhée chez l'agneau: un sujet à «éviter»». CRAAQ.
- De graaf D.C., vanopdenbosch E., Ortega-Mora L.M., Abbassi H., Peeters J.E.** (1999) « A review of the importance of cryptosporidiosis in farm animals.» *International Journal for Parasitology*, 29, 1269-87.
- De La Fuente R., Luzon M., Ruiz – Santa - Quitarria J. A, Garcia A., Cid D., Orden J.A., Garcia S., Sanz R., Et Gomez-Bautista M.** (1999) «*Cryptosporidium* and concurrent infectious with other major enteroparathogens in 1 to 30-day old diarrheic dairy calves in central» Spain. *Vet. Parasitol.* , 80,179-185.
- Delafosse A., Castro-Hermida J.A., Baudry C., Pors I., Ares-Mazas M., Chartier C.** (2003) « Prévalence et facteurs de risque de la Cryptosporidiose caprine dans le département des Deux Sevres» *10èmes Rencontres Recherches Ruminants*, 289-292.
- Enemark H.L., Ahrens P., Lowery C.J., Thamsborg S.M., Enemark J.M., Bille-Hansen V., Lind P.,** (2002) «*Cryptosporidium andersoni* from a Danish cattle herd: identification and preliminary characterization.» *Vet. Parasitol.*, 107: 37-49.
- Euzeby J.** (2002) « La Cryptosporidiose humaine.» *Bull. Acad. Nat., Méd.*, 186 N°5, 837- 850,
- Faubert G.M., Litvinski Y.** (2000) «Natural transmission of *Cryptosporidium parvum* between dams and calves on a dairy farm. » *J Parasitol.* 83(3):495-500.
- Fayer R.** (1997) «*Cryptosporidium* and cryptosporidiosis.» CRC Press, Boca Raton, New York, London, Tokio.
- Fayer R.** (2004) «*Cryptosporidium*, a water-borne zoonotic parasite», *Veterinary Parasitology*, 126, 37-56.
- Fayer R., Andrews C., Ungar B.L.P., Blagburn B.** (1989) «Efficacy of hyperimmune bovine colostrum for prophylaxis of cryptosporidiosis in neonatal calves». *J Parasitol.* 75(3):393-7.
- Fayer R., Gasbarre L., Pasquali P., Canals A., Almeria S., Zarlenga D.** (1998) «*Cryptosporidium parvum* infection in bovine neonates: dynamic clinical, parasitic and immunologic patterns». *Int J Parasitol.* 28:49-56.
- Garber L.P., Salman M.D., Hurd H.S., Keefe T., Schlater J.L.** (1994) «Potential risk factors for *Cryptosporidium* infection in dairy calves» *J Vet Med Sci.* 205(1):86-91.

Gati A.E. (1992) « La Cryptosporidiose : diagnostic parasitologique, infections naturelles chez onze espèces animales et chez l'homme et étude des effets de l'immunodéficience et de l'immunostimulation expérimentales chez le lapereau.» Doctorat, Université Cadi Ayyad. Marrakech p82.

Graczyk T.K., Fayer R., Knight R., Mhangami-Ruwende B., Trout J.M., Da Sylva J.D., Pieniazek N.J. (2000) «Mechanical transport and transmission of *Cryptosporidium parvum* oocysts by wild filth flies.» Am J Epidemiol. 63:178-83.

Harp J.A., Woodmansee D.B., Moon W. (1990) «Resistance of calves to *Cryptosporidium parvum*: effects of age and previous exposure. » Infect Immun. 58(7):2237-40.

Heitman T.L., Frederick L.M., Viste J.R., Guselle N.J., Morgan U.M., Thompson R.C.A., Olson M.E. (2002) « Prevalence of *Giardia* and *Cryptosporidium* and characterization of *Cryptosporidium* spp». isolated from wildlife, human, and agricultural sources in the North Saskatchewan River Basin in Alberta, Canada. Can J Microbiol. 48:530-41.

Heitman T.L., Frederick L.M., Viste J.R., Guselle N.J., Morgan U.M., Thompson R.C.A., Olson M.E. (2002b) «Prevalence of and risk factors involved in the spread of neonatal bovine cryptosporidiosis in Galicia (N.W. Spain). » Vet Parasitol. 106:1-10.

Henriksen S.A., Krogh H.V. (1985) «Bovine cryptosporidiosis in Denmark. Prevalence, age distribution and seasonal variation. »Nord.Vet. Med, **37**, 34-41.

Huetink R.E.C., van der Giessen J.W.B., Noordhuizen J.P.T.M., Ploeger H.W. (2001) «Epidemiology of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* on a dairy farm. » Vet Parasitol. 102:53-67.

Jellison K.L., Hemond H.F., Schauer D.B. (2002) «Sources and species of *Cryptosporidium* oocysts in the Wachusett reservoir watershed.» Appl Environ Microbiol. 68(2):569-75.

Joachim A. (2004) «Human cryptosporidiosis: an update with special emphasis on the situation in Europe. » J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health 51, 251-259.

Kanyari P.W.N., Oyejide A.O., Alak J.I.B., Anderson D.L., Wilson S.T., Srivastava K. (2002) «*Cryptosporidium parvum*: experimental transplacental transmission in murine hosts.» Isr J Med Vet. 57(2).

Khelef D., Saïb M. Z., Akam A., Kaidi R., Chirila V., Cozma V., K. Adjou T. (2007) « Epidémiologie de la Cryptosporidiose chez les bovins en Algérie.» Revue Méd. Vét., 158, 5, 260-264.

Klesius P.H., Haynes T.B., Malo L.K. (1986) «Infectivity of *Cryptosporidium* sp. isolated from wild mice for calves and mice. » J Am Vet Med Assoc. 189(2):192-3.

- Kvac M., Vitovec J.** (2003) «Prevalence and pathogenicity of *Cryptosporidium andersoni* in one herd of beef cattle. » J Vet Med. 50:451-7.
- Lefay D., Naciri M., Poirier P., Chermette R.** (2000) «Prevalence of *Cryptosporidium* infection in calves in France. » *Vet. Parasitol.*, **89**: 1-9.
- Levine N.D.** (1984) « Taxonomy and review of the coccidien genus *Cryptosporidium* (Protozoa, Apicomplexa » *Journal of Protozoology*, 31(1).94-98.
- Lorenzo M.J., Ben B. ; Mendez F., Villacorta I., Ares-Mazas M.E.** (1995) « *Cryptosporidium parvum* oocyst antigens recognized by sera from infected asymptomatic adulte cattle. » *Veterinary Parasitology*. 60.17-25.
- Mac Cluskey B.J., Greiner E.C., Donovan G.A.** (1995) «Patterns of *Cryptosporidium* oocyst shedding in calves and a comparison of two diagnostic methods. » *Vet. Parasitol.*, **60**, 185-190.
- Maldonado-Camargo S., Atwill E.R., Saltijeral-Oaxaca J.A., Herrera-Alonso L.C.** (1998) «Prevalence of and risk factors for shedding of *Cryptosporidium parvum* in Holstein Freisian dairy calves in central Mexico». *Prev Vet Med*. 36:95-107.
- Mann E.D., Sekla L.H., Nayar G.P., Koschik C.** (1986) «Infection with *Cryptosporidium* spp. In humans and cattle in Manitoba» *Can J Vet Res*. 50(2):174-8.
- Martin-Gomez S., Álvarez-Sánchez M.A., Rojo-Vázquez F.A.** (2005) «Obtaining hyperimmune anti-*Cryptosporidium parvum* ovine colostrum. A study of the humoral immune response in immunized sheep.» *Parasitol Res*. 98:119-29.
- Mathison B.A., Ditrich O.** (1999) «The fate of *Cryptosporidium parvum* oocysts ingested by dung beetles and their possible role in the dissemination of cryptosporidiosis. » *J Parasitol*. 85(4):678-81.
- Mele R., Gomez Morales M.A., Tosini F., Pozio E.**, 2004. «*Cryptosporidium parvum* at different developmental stages modulates host cell apoptosis in vitro. » *Infect Immun* 72, 6061-6067.
- Meuten D.J., Vankruiningen H.J., Lein D.H.** (1974) « Cryptosporidiosis in a calf. » *J. Am.Vet. Med. Assoc.*, 165, 914-917.
- Mohammed H.O., Wade S.E., Schaaf S.** (1999) «Risk factors associated with *Cryptosporidium parvum* infection in dairy cattle in southeastern New York State.» *Vet Parasitol*. 83:1-13.
- Naciri M.** (1992) «La Cryptosporidiose. importance de la contamination de l'eau» *INRA Productions animales*, 1992, 5 (5), pp.319-327.
- Naciri M.** (1994) « Cryptosporidiose des ruminants et santé publique.» *Le Point Vétérinaire*, numéro spécial « Ruminants et santé publique » 26, 49-55. 33.
- Naciri M., Yvore P.** (1983) «La cryptosporidiose des bovins.» *Rec. Méd. Vét.*, 159(3), 221-226.

- Naciri M., Lacroix S., Laurent F.** (2000) « La Cryptosporidiose des ruminants. 1ere partie. ». L'action vétérinaire, n°1536. 17-23.
- Naciri M., Mancassola R., Fort G, Danneels B., Verhaeghe J.** (2011) «Efficacy of amine-based disinfectant KENO™COX on the infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocysts.» *Vet Parasitol.* 179(1-3):43-9.
- Navin T.R., Juranek D.D.** (1984) «Cryptosporidiosis: clinical, epidemiologic and parasitologic review.» *Review. Rev.Infect. Dis*, **6**, 313-327.
- Navetat H.** (1999) «Les gastro-entérites diarrhéiques du veau.» *Dép. Vét., Supplément technique* 62, 1-25.
- Nesterenko M.V., Woods K., Upton S.J.,** (1999) «Receptor/ligand interactions between *Cryptosporidium parvum* and the surface of the host cell. » *Biochim Biophys Acta* 1454,165-173.
- Noordeen F., Horadagoda N.U., Razak M.A.** (2002) « Infectivity of *C.parvum* isolated from adult goats to mice and goat kids » *Veterinary Parasitology*, 103 (03), 217-225.
- O'Donoghue P.J.** (1995) « *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis in man and animals. » *Inter. J. Parasitol.*, 25, 139 -195.
- O'Handley R.M., Cockwill C., McAllister T.A., Jelinski M., Morck D.W., Ols M.E.** (1999) «Duration of naturally acquired giardiasis and cryptosporidiosis dairy calves and their association with diarrhea». *J Am Vet Med Assoc.* 214(3):391-6.
- Okhuysen P.C, Chappell C.L., Crabb J.H., Sterling C.R. & Dupont H.L.** (1999) «Virulence of three distinct *Cryptosporidium parvum* isolates for healthy adults. » *J. Infect. Dis.*, **180**, 1275–1281.
- Okhuysen P. C., Chappell C. L.** 2002. «*Cryptosporidium* virulence determinants -are we there yet? » *Int J Parasitol* 32:517-525.
- Olsson S.O., Viring S., Emanuelsson U., Jacobsson S.O.** (1993). «Calf diseases and mortality in Swedish dairy herds.» *Acta Vet Scand*, **34**, 263-269.
- Olson M.E., Guselle N.J., O'handley R.M., Swift M.L., Mac Allister T.A., Jelinski M.D. Et Morck D.W.** (1997) «Giardia and *Cryptosporidium* in dairy calves in British Columbia.» *Can. Vet. J.*, **38**, 703-706.
- Pancieri R.J., Thomassen R.W., Garner F.M.** (1971) « *Cryptosporidial* infection in calf ». *Vet. Pathol.*, **8**, 479 - 484.
- Peeters J., Villacorta I.** (1995) « *Cryptosporidium*. » In: Guidelines on techniques in coccidiosis reserarch. Editors: Eckert J., Braun R., Shirley M.W., Couder P., Biotechnology COST 89/820, Report EUR 16 602 EN, European Commission, Brussels, 202-240.

- Polack B., Chermette R., Savey M., Bussieras J.** (1983) « Les Cryptosporidies en France, Techniques usuelles d'identification et résultats préliminaires d'enquêtes épidémiologiques.» *Le point vétérinaire*, 15, 41-45.
- Quigley J.D., Martin K.R., Bemis D.A., Potgieter L.N.D., Reinemeyer C.R., Rohrbach B.W., Dowlen H.H., Lamar K.C.** (1994) «Effects of housing and colostrum feeding on the prevalence of selected infectious organisms in feces of Jersey Calves.» *J Dairy Sci.* 77:3124-31.
- Quy R.J., Cowan D.P., Haynes P.J., Sturdee A.P., Chalmers R.M., Bodley-Tickell A.T., Bull S.A.** (1999) « The Norway rat as a reservoir of *Cryptosporidium parvum*. » *J Wildl Dis.* 35(4): 660-70.
- Radostis O., Gay C., Blood D., Hinchcliff K.** (2000) « Cryptosporidiosis» *Veterinary medicine* 9th ed. 1310-1313.
- Radostits O.M., Gay C.C., Blood D.C., Hinchcliff K.W.** (2001) «Diseases caused by protozoa. » In *Veterinary Medicine*, Edition Saunders, 9ème Edition, Part I -6, 1311-1313.
- Ralston B.J., McAllister T.A., Olson M.E.** (2003) «Prevalence and infection pattern of naturally acquired giardiasis and cryptosporidiosis in range beef calves and their dams. » *Vet Parasitol.* 114:113-22.
- Ramirez N.E., Ward L.A., Sreevatsan S.** (2004) «A review of the biology and epidemiology of cryptosporidiosis in humans and animals. » *Microbes Infect*, 6: 773-785.
- Riggs M.W., Stone A.L., Yount P.A., Langer R.C., Arrowood M.J., Bentley D.L.,** (1997) «Protective monoclonal antibody defines a circumsporozoite-like glycoprotein exoantigen of *Cryptosporidium parvum* sporozoites and merozoites.» *J Immunol* 158, 1787-1795.
- Riggs M.W., McNeil M.R., Perryman L.E., Stone A.L., Scherman M.S., O'Connor R.M.** (1999) «*Cryptosporidium parvum* sporozoite pellicle antigen recognized by a neutralizing monoclonal antibody is a beta-mannosylated glycolipid.» *Infect Immun* 67, 1317-1322.
- Riggs M.W.** (2002) « Recent advances in cryptosporidiosis: the immune response. » *Microbes Infect*, 4, 1067-1080.
- Rocques H. C. M.** (2006) « La cryptosporidiose du chevreau, données bibliographiques et essai thérapeutique de la nitazoxanide» Doctorat, Ecole Nationale Vétérinaire D'ALFORT.
- Ruest N., Faubert G.M., Couture Y.** (1998) «Prevalence and geographical distribution of *Giardia* spp. and *Cryptosporidium* spp. in dairy farms in Quebec.» *Can Vet J.* 39:697-700.
- Santin M., Trout J.M., Xiao L., Zhou L., Greiner E., Fayer R.** (2004) « Prevalence and age-related variation of *Cryptosporidium* species and genotypes in dairy calves.» *Vet Parasitol.* 122 (2):103-17.

Schelcher F. (2 et 3 février 1999) « Gastroentérites néonatales du veau ». IV session de pathologie bovine, UCCAB, Paris.

Schmidt J., Kuhlenschmidt M.S. (2008) «Microbial adhesion of *Cryptosporidium parvum*: identification of a colostrum-derived inhibitory lipid.» Mol Biochem Parasitol. 162(1):32-9.

Smith C.M., Sherman D.M. (1994) «*Goat medicine*» Philadelphie: Lea et Febiger, 620 p.

Smith H.V., Caccio S.M., Cook N., Nichols R.A., Tait A. (2007) «*Cryptosporidium* and *Giardia* as food borne zoonoses.» Vet Parasitol 149, 29-40.

Sischo W.M., Atwill E.R., Lanyon L.E., George J. (2000) «Cryptosporidia on dairy farms and the role these farms may have in contaminating surface water supplies in the northeastern United States.» Prev Vet Med. 43:253-67.

Sonzogni-Desautels k. (2009) « L'importance de la Cryptosporidiose chez les veaux.» Congrès du bœuf, université de Montréal.

Spano F., Putignani L., Guida S., Crisanti A., (1998) «*Cryptosporidium parvum*: PCR-RFLP analysis of the TRAP-C1 (thrombospondin-related adhesive protein of *Cryptosporidium-1*) gene discriminates between two alleles differentially associated with parasite isolates of animal and human origin. » Exp Parasitol 90, 195-198.

Steele, M.I., Kuhls, T.L., Nida, K., Meka, C.S., Halabi, I.M., Mosier, D.A., Elliott, W., Crawford, D.L., Greenfield, R.A., 1995. «A *Cryptosporidium parvum* genomic region encoding hemolytic activity. » Infect Immun 63, 3840-3845.

Strong W.B., Gut J., Nelson R.G., (2000) «Cloning and sequence analysis of a highly polymorphic *Cryptosporidium parvum* gene encoding a 60-kilodalton glycoprotein and characterization of its 15- and 45-kilodalton zoite surface antigen products.» Infect Immun 68, 4117-4134.

Szostakowska B., Kruminis-Lozowska W., Racewicz M., Knight R., Tamang L., Myjak P.,

Graczyk T.K. (2004) «*Cryptosporidium parvum* and *Giardia lamblia* recovered from flies on a cattle farm and in a landfill.» Appl Environ Microbiol. 70(6):3742-4.

Takagi M., Toriumi H., Endo T., Yamamoto N., Kuroki T. (2008) «An outbreak of cryptosporidiosis associated with swimming pools. » Kansenshogaku Zasshi. 82(1):14-9.

Tyzzar E.E. (1907) « A sporozoan found in the peptic gland of the common mouse. » Proc Soc Exp Biol Med 5, 12.

Tzipori S., Campbell I., Sherwood., Snodgrass D.R. Et Withelaw A. (1980) « An outbreak of calf diarrhoea attributed to cryptosporidial infection.» Vet. Rec., **107**, 579-580.

Tzipori .S, Smith M., Halpin C., Angus K.W., Sherwood D., Campbell I. (1983) «Experimental cryptosporidiosis in calves: clinical manifestations and pathological findings. » *Veterinary records*. 112(6):116-20.

Valigurova A., Jirku M., Koudela B., Gelnar M., Modry D., Slapeta J. (2008) «Cryptosporidia: epicellular parasites embraced by the host cell membrane. » *Int J Parasitol* 38, 913-922.

Villacorta I., Ares-Mazas E., Lorenzo M.J., (1991) «*Cryptosporidium parvum* in cattle, sheep and pigs in Galicia (N.W. Spain) ». *Vet Parasitol*. 38:249-52.

Villacorta I., Peeters J.E., Vanopdenbosch E., Aresmazas E., Theys H. (1991b) «Efficacy of halofuginone lactate against *Cryptosporidium parvum* in calves.» *Antimicrob Agents Chemother*, **35**, 283-287.

Villeneuve A. (2003) « Les zoonoses parasitaires». Les Presses de l'Université de Montréal, 499 p.

Wade S.E., Mohammed H.O., Schaaf S.L. (2000) «Prevalence of *Giardia* sp., *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium muris* in 109 dairy herds in five counties of southeastern New York». *Vet Parasitol*. 93:1-11.

Waltner-Toews D., Martin S.W., Meek A.H. (1986) «An epidemiological study of selected calf pathogens on Holstein dairy farms in Southwestern Ontario.» *Can J Vet Res*, **50**, 307-313.

Xiao L., Morgan U.M., Fayer R., Thompson R.C., LAL A.A. (2000). « *Cryptosporidium* systematics and implications for public health ». *Parasitology Today*, **16**, 7, 287-292.

Xiao L., R. Fayer U. Ryan and S. J. Upton. (2004) «*Cryptosporidium* taxonomy: recent advances and implications for public health». *Clin Microbiol Rev* **17**:72-97.

Annexes

Annexe 01

Matériels :

a)-Matériels utilisés :

- Gants jetables.
- Tubes en plastique
- Verre à pied conique
- Agitateur
- Centrifugeur
- Pipettes pasteur
- Lames porte objet.
- Bacs à coloration.
- Microscope optique

b)- Réactifs et colorants

- Fuchsine phéniqué de Zeihl
- Formol à 10%.
- Ether
- Ethanol
- Acide sulfurique à 2%.
- Vert de malachite.

Annexe 02 :

Le questionnaire :

Zone d'étude :

Date de l'enquête :

Caractéristique de l'exploitation :

Type d'élevage : laitière /allaitante /engraissement

Stabulation : entravée /semi entravée / libre

Boxes : individuel /collectif (hygiène : bonne /moyenne/ mauvaise)

Alimentation utilisée :

Hygiène des animaux :

Hygiène de l'exploitation litière / étable : (bonne /moyenne/ mauvaise) Odeur :

Gestion d'élevage :

Vêlage : programmé /non.

Maternité : endroit spécial / non (hygiène : bonne /moyenne/ mauvaise).

Allaitement : lait de la mère (quantité administrée :) /lait en poudre.

Isolement du veau après la naissance / il reste sous la mère.

Vaccination : oui /non.

Déparasitage : oui /non.

Achat des animaux : seul / avec les autres.

Insémination artificielle: oui /non.

Désinfection de l'ombilic : oui (par :) / non

Dernier tiers de la gestation : alimentation spéciale : oui /non.

Condition de vêlage :

Locale spéciale : oui /non.

Nettoyage après chaque vêlage : oui / non (à la fin de la saison).

Bovin adulte :

Numéro de boucle :

Race :

Age :

Numéro de lactation :

Nature de vêlage :

Matière fécale :

	Couleur	Consistance	mucus	sang
vache				

Veau :

Numéro de boucle :

Race :

Age :

Sexe :

Parcage de veau : collectif / individuel.

Diarrhée néonatale : oui /non.

Matière fécale :

	Couleur	Consistance	mucus	sang
vache				