

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية**

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**  
**وزارة التعليم العالي و البحث العلمي**

**ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE- ALGER**  
**المدرسة الوطنية العليا للبيطرة - الجزائر**

**MÉMOIRE POUR L'OBTENTION DU DIPLÔME DE MAGISTERE EN  
SCIENCES VETERINAIRES**

**OPTION : ELEVAGE, PATHOLOGIE ET INDUSTRIE DES ANIMAUX  
DE BASSE COUR**

**Thème**

**Étude de la prévalence de l'infection à  
Cryptosporidium sp. chez le poulet de chair et la dinde chair  
dans quelques élevages de la wilaya de Boumerdes**

**Présenté par : Dr GUECHTOULI Sihem.**

Le jury :

Président : Dr Hamdi T-M (Maitre de conférence A, ENSV)

Promoteur : Dr Khelef D (Maitre de conférence A, ENSV)

Examineurs : Dr Aissi M (Professeur, ENSV)

Dr Ghalmi F (Maitre de conférence B, ENSV)

Dr Baroudi D (Maitre assistant A, ENSV)

*Année universitaire : 2010/2011*

## *Remerciements*

La réalisation d'un mémoire n'est pas seulement un travail de longue haleine mais aussi une formidable expérience scientifique. Bien que délicate, l'écriture des remerciements est un élément indispensable pour témoigner ma profonde reconnaissance à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail. Je tiens tout d'abord à exprimer mes sincères remerciements aux membres du jury :

- Dr Hamdi Taha Mossadak, Maître de Conférences à l'École Nationale Supérieure Vétérinaire, qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de mémoire. Hommages respectueux.
- Melle Aissi Meriem, Professeur à l'École Nationale Supérieure Vétérinaire, pour l'intérêt qu'elle a porté à ce mémoire en acceptant d'être membre de jury. Sincères remerciements.
- Melle Ghalmi Farida, Maître de Conférences à l'École Nationale Supérieure Vétérinaire, pour l'honneur qu'elle nous fait d'accepter de juger ce travail, pour ses conseils pertinents et pour ses encouragements, Sincères remerciements.
- Dr Baroudi Djamel, Maître assistant à l'École Nationale Supérieure Vétérinaire, qui nous a fait l'honneur d'accepter de siéger à notre jury de mémoire, pour l'aide qu'il a bien voulu nous apporter, qu'il trouve ici le témoignage de notre sincère reconnaissance.
- Mes remerciements s'adressent également à mon promoteur, Dr Djamel Khelef, pour avoir accepté de diriger ce travail et assurer mon encadrement et mon initiation à la recherche scientifique, pour sa gentillesse, sa disponibilité et sa patience. Qu'il trouve ici le témoignage de ma reconnaissance et mon profond respect.

Un grand et sincère merci pour Dr Goucem Rachid pour l'orientation du choix du sujet et tout ce que vous m'avez appris sur la pathologie aviaire, pour votre rigueur scientifique, vos conseils précieux et votre disponibilité qui m'ont permis de mener à bien ce travail.

Je tiens à remercier vivement Mme Zenia Safia, Maître assistante à l'École Nationale Supérieure Vétérinaire pour son aide précieuse. Hommages respectueux.

Ma reconnaissance va particulièrement à Mme Zouambi Amina, Maître assistante à l'École Nationale Supérieure Vétérinaire, pour sa disponibilité, ses conseils et toute l'aide qu'elle m'a apportée avec ses connaissances en histologie.

Un grand et sincère remerciement à M. Keddour Rachid, du Laboratoire d'Anapath et M. Saadi Ahmed du laboratoire de parasitologie de l'ENSV, pour leur aide et pour leur soutien moral. Sincères remerciements.

Je tiens à remercier Mme Doumandji Wafa, Dr vétérinaire de l'Office Régional Avicole Centre de Corso, pour sa disponibilité, ses conseils et toute l'aide qu'elle m'a apportée.

J'adresse mes remerciements à mes amis de l'ENSV : Henneb M, Mesaad S, Benrabia I, Amara-Maadi FZ, Bouhamed R, Belakhel F, Boulbina I, Messai CR, pour leur soutien moral et leur aide précieuse. À mes amis d'enfance : Selmani S, Dib R, Yahi M.

Je ne saurais oublier de remercier vivement tous mes confrères et collègues de post-graduation des différentes options, "Élevage, pathologie et industrie des animaux de basse cour", "Nutrition et reproduction des bovins", "Hygiène alimentaire" et "Pathologie infectieuse".

Je tiens à remercier aussi les agents de la bibliothèque de l'ENSV : Benabdedaim M, Derami H, Tchikou F, Belhouel D et Yacine.

Enfin, je voudrais remercier toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

## *Dédicaces*

*Je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers :*

*Au feu mon père, qui j'en suis sûre aurait été très fier de sa fille, tu seras toujours dans mes pensées et dans mon cœur, dieu t'accueille dans son vaste paradis.*

*A ma mère, pour tout le soutien qu'elle m'a apporté, pour les sacrifices qu'elle a toujours réalisés, pour tout l'amour que j'ai pour elle. Dieu te garde pour moi.*

*A la mémoire de mes grands-parents :*

*Mohamed et Rabah*

*Fatma et Ghira*

*A ma sœur, l'unique et la seule Nabila*

*A mes frères Nabil et Mounir*

*A mon beau frère Aziz et ma petite nièce Amani  
Samar*

*A tous mes oncles et tantes et tous les cousins et cousines*

*A toute la famille Guechtouli et Achouri.*



## **Résumé**

Durant la période allant d'octobre 2009 à septembre 2010, la prévalence de l'infection cryptosporidienne est déterminée dans 22 élevages, dont 17 élevages de poulets de chair et 5 élevages de dindes, dans la wilaya de Boumerdes. Pour chaque élevage, une visite hebdomadaire est effectuée durant la période d'étude et les renseignements relatifs au mode d'élevage et à l'état sanitaire recueillis. Dans ces élevages, 98 poulets et 22 dindes font l'objet d'examens clinique et lésionnel. Les analyses des matières fécales de groupe, des prélèvements de tissus et raclages effectués à partir de l'intestin, de la bourse de Fabricius, de la trachée, du cloaque et du proventricule révèlent chez le poulet une prévalence globale de 55% (54/98 examinés). L'âge des poulets joue un rôle primordial. Ainsi, une fréquence élevée de la présence de *Cryptosporidium* sp. est observée chez les poulets âgés de 10 à 50 jours, avec un maximum entre 31 et 40 jours (84,62%). Le parasite n'est pas détecté chez les poulets âgés de moins de 7 jours. La localisation la plus fréquente de *Cryptosporidium* sp. est la bourse de Fabricius (24,2%), suivie de la trachée (21,5%), du cloaque (18,9%), des intestins (16,3%) et du proventricule (6,6%).

Chez le dindon, la prévalence globale est de 41% (9 /22 examinés). La bourse de Fabricius représente l'organe le plus infecté par *Cryptosporidium* sp., soit une fréquence de 23.81%, suivie du cloaque et de l'intestin, avec des fréquences respectives de 15,79 et 9%. Les organes les moins affectés sont la trachée et le proventricule avec 4,55%.

D'autre part, pour les deux espèces aviaires (poulet de chair et dinde), l'impact de la saison est évalué, ainsi que celui de la souche (potentiel génétique) et des conditions d'élevage, sur la prévalence de *Cryptosporidium* sp.

Les résultats montrent que la cryptosporidiose est très fréquente dans nos élevages, et ceci est lié principalement aux conditions climatiques et à la mauvaise gestion, hygiénique particulièrement, des élevages.

**Mots clés :** Cryptosporidiose, poulet de chair, dinde, prévalence, wilaya de Boumerdes.

## Abstract

During the period from October 2009 to September 2010, the prevalence of cryptosporidien infection is determined in 22 farms, 17 broiler farms and 5 turkey's, in the wilaya of Boumerdes. For each farm, a visit is conducted weekly during the study period and information on the type of farming and the health status collected. In these farms, 98 chickens and 22 turkeys are being reviewed and clinical lesion. Analyses of faeces group, tissue samples and scrapings made from the intestine, bursa, trachea, cloaca and proventriculus reveal in chicken's farms a prevalence of 55% (54 / 98 examined). The age of chickens plays an important role. Thus, a high frequency of the presence of *Cryptosporidium* sp. is observed in chickens aged 10 to 50 days with a maximum between 31 and 40 days (84.62%). The parasite is not detected in chickens younger than 7 days. The most common site of *Cryptosporidium* sp. is the bursa (24.2%), followed by the trachea (21.5%), cloaca (18.9%), intestines (16.3%) and proventriculus (6.6%). In turkeys, the overall prevalence is 41% (9 / 22 examined). The bursa is the largest organ infected with *Cryptosporidium* sp., A frequency of 23.81%, followed by the cloaca and intestine, with respective frequencies of 15.79 and 9%. The organs are less affected trachea and proventriculus with 4.55%. On the other hand, for both avian species (broiler and turkey), the impact of the season is reviewed, and that of the strain (genetic potential) and rearing conditions, the prevalence of *Cryptosporidium* sp. The results show that *Cryptosporidium* is very common in our farms, and this is related mainly to climatic conditions and poor management, particularly hygienic, farms.

Keywords: Cryptosporidiosis, broiler, turkey, prevalence, wilaya of Boumerdes.

## ملخص

خلال الفترة من أكتوبر 2009 إلى سبتمبر 2010 ، تم تحديد معدل انتشار عدوى الكريبتوسبورديوز في 22 مزرعة للدواجن ، 17 من مزارع الدجاج اللحم و 5 للديك الرومي، في ولاية بومرداس. لكل مزرعة، ويجري زيارة أسبوعيا خلال فترة الدراسة وقمنا بجمع معلومات عن طريقة التربية والحالة الصحية في هذه المزارع، وقمنا بفحص إكلينيكي و تشريح 98 الدجاج و22 ديك الرومي. تحليل لمجموعة البراز وعينات الأنسجة وكشطات مصنوعة من الأمعاء ، الجراب ، مجرور ، القصبه الهوائية ومقدم المعدة تكشف في مزارع الدجاج اللحم في معدل انتشار 55 % (98/54 فحص). سن دجاج يلعب دورا هاما. وهكذا ، فإن ارتفاع وتيرة وجود بالكلويتيتوسبورديوم. ويلاحظ في الدجاج الذين تتراوح أعمارهم بين 10 حتي 50 أيام بحد أقصى ما بين 31 و 40 يوما (84.62%). لم يتم الكشف عن الطفيلي في الدجاج الذي تقل أعمارهم عن 7 أيام. الموقع الأكثر شيوعا بالكلويتيتوسبورديوم. هو جراب (24.2%) ، تليها القصبه الهوائية (21.5%) ، مجرور (18.9%)، والأمعاء (16.3%) و مقدمة المعدة (6.6%).

في الديوك الرومية ، تمثل نسبة الانتشار العامة 41 % (22/09 فحص). والجراب هو اكبر جهاز المصابين بالكلويتيتوسبورديوم ، تردد ، يليه مجرور والأمعاء ، مع ترددات على التوالي 23.81% و 15.79% و 9 % القصبه الهوائية أقل تأثرا ومقدم المعدة 4.55% من ناحية أخرى بالنسبة لأنواع الطيور (الدجاج اللحم والديك الرومي) ، تم استعراض تأثير الفصول، و السلالة (الإمكانية الجينية) وظروف تربية على انتشار الكريبتوسبورديوم. وتظهر النتائج أن الكريبتوسبورديوم أمر شائع جدا في مزارعنا ، ويرتبط هذا أساسا إلى الظروف المناخية وسوء الإدارة ، ولا سيما الظروف الصحية للمزارع.

كلمات البحث : كريبتوسبورديوز ، الدجاج اللحم ، ديك الرومي ، وانتشار ، ولاية بومرداس.

## Liste des figures

Figure N°		Page
<b>Partie bibliographique</b>		
01	Cycle de développement de <i>Cryptosporidium</i> sp.	05
02	Un sporozoite excystant de l'oocyste (microscopie électronique à transmission).	07
03	Trophozoite dans son enveloppe parasitophore (microscopie électronique à transmission).	07
04	Méronte de type I (à gauche) et méronte de type II (à droite) (microscopie électronique à transmission).	08
05	Microgamète (à gauche) et macrogamète (à droite) (microscopie électronique à transmission).	09
06	Cycle de développement de <i>Cryptosporidium baileyi</i> .	11
07	Trachée de dinde bordée de nombreux oocystes (microscopie électronique à transmission).	12
<b>Partie expérimentale</b>		
01	Situation géographique des élevages étudiés.	46
02	Types de bâtiments d'élevage.	48
03	Protocole de l'étude.	49
04	Découpage d'organes en tranches peu épaisses et conservation dans l'eau formolée à 10%.	55
05	Déshydratation dans trois bains d'alcool à concentrations croissantes et inclusion dans la paraffine à 56-58° pendant 12 heures.	55
06	Étapes de préparation des blocs de paraffine	56
07	Découpage des blocs à l'aide d'un microtome	56
08	Préparation de la lame histologique	57
09	Oocyste de <i>Cryptosporidium</i> sp., coloration de Ziehl Neelsen modifiée. Examen de matières fécales de dinde, x 100	59
10	Oocyste de <i>Cryptosporidium</i> sp., coloration de Ziehl Neelsen modifiée. Examen de raclage bourse de Fabricius chez la poule, x 100	59
11	Attachement de cryptosporidies à la cellule épithéliale trachéale	60

12	Attachement de cryptosporidies à la cellule épithéliale bursale	60
13	Comparaison entre une muqueuse bursale saine et d'autres infectées par <i>Cryptosporidium</i> sp. Coloration hémalun-éosine.	61
14	Comparaison entre une muqueuse trachéale saine et infectée par <i>Cryptosporidium</i> sp. Coloration H-éosine	62
15	Lésions au niveau du jéjunum de poulet âgé d'un mois, infecté par <i>Cryptosporidium</i> sp.	63
16	Présence de <i>Cryptosporidium</i> spp. dans la lumière d'un proventricule de poulet âgé de 3 semaines. Coloration hémalun éosine	63
17	Fréquence de l'infection par <i>Cryptosporidium</i> sp. selon l'âge	65
18	Fréquence de l'infection par <i>Cryptosporidium</i> selon la saison	67
19	Fréquence de l'infection par <i>Cryptosporidium</i> en fonction des conditions d'élevage	68
20	Conditions d'élevage des bâtiments étudiés	69
21	Stockage de l'aliment dans de mauvaises conditions	70
22	Fréquence de l'infection par <i>Cryptosporidium</i> selon la souche (potentiel génétique)	71
23	Fréquence des localisations de <i>Cryptosporidium</i>	72
24	Fréquence de l'infection par <i>Cryptosporidium</i> selon les conditions d'élevage	75
25	Conditions d'élevage des bâtiments étudiés	76
26	Fréquence des localisations de <i>Cryptosporidium</i>	77
27	Variation de la prévalence de <i>Cryptosporidium</i> sp. en fonction de la souche	78
28	Signes cliniques et lésions rencontrés lors d'infection par <i>Cryptosporidium</i> sp	81

## Liste des tableaux

Tableau N°		Page
<b>Partie bibliographique</b>		
01	Taxonomie de <i>Cryptosporidium</i>	04
02	Comparaison morphométrique des oocystes de <i>Cryptosporidium meleagridis</i> , <i>C. baileyi</i> , <i>C. galli</i> et des génotypes aviaires pour lesquels les dimensions sont disponibles	13
03	les espèces de <i>Cryptosporidium</i> décrites chez les oiseaux	16
04	Localisations exceptionnelles lors d'infection expérimentale	18
05	Transmission de <i>Cryptosporidium</i> entre les espèces aviaires	19
06	Essais de transmissions croisées d'oiseaux à mammifères	20
07	Essais de transmissions croisées de mammifères à oiseaux (voie orale)	20
08	Prévalence des cryptosporidies chez les oiseaux	23
09	Voies d'inoculation lors d'infections expérimentales chez les oiseaux.	27
10	Lésions couramment décrites lors d'affection naturelle par <i>Cryptosporidium</i> sp.	34
<b>Partie expérimentale</b>		
01	Espèces étudiées	47

## SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
-------------------	---

### *Partie bibliographique*

CHAPITRE I : Étude des parasites .....	2
<b>I-1- Historique</b> .....	2
I-1-1-Chez les animaux.....	2
I-1-2- Chez l'homme.....	3
<b>I-2- Position systématique</b> .....	3
I-2-1- Classification.....	3
I-2-2- Spéciation.....	4
<b>I-3- Cycle biologique</b> .....	5
I-3-1-Schéma du cycle.....	5
I-3-2- Étapes et chronologie.....	6
I-3-3- Particularités du cycle évolutif des espèces aviaires de <i>Cryptosporidium</i> .....	10
<b>I-4- Morphologie des stades parasitaires</b> .....	12
I-4-1- L'oocyste.....	12
I-4-2- Les formes mobiles.....	13
I-4-3- Les formes intracellulaires.....	14
<b>I-5- Espèces parasitaires et leur situation dans l'organisme</b> .....	16
I-5-1- Espèces de <i>Cryptosporidium</i> décrites chez les oiseaux.....	16
I-5-2- Situation dans l'organisme.....	17
<b>I-6- Spécificité d'hôte</b> .....	18
I-6-1- Chez les oiseaux.....	18
I-6-2- Passage des cryptosporidies entre oiseaux et mammifères.....	20
I-6-3- Passage des cryptosporidies des oiseaux à l'homme.....	21
<b>Chapitre II : La Cryptosporidiose</b> .....	22
<b>II-1- Définition de la cryptosporidiose</b> .....	22

II-2-1- Répartition géographique.....	22
II-2-2- Prévalence.....	23
II-2-3- Les sources parasitaires et modes de contamination.....	26
II-2-4- Espèce hôte.....	27
II-2-5- Espèces parasite et voie d'inoculation.....	28
II-2-6- Résistance des différentes formes parasitaires.....	28
II-2-7- Dose infectante.....	29
<b>II-3- Pathogénie-physiopathologie.....</b>	<b>29</b>
II-3-1- Pathogénie des manifestations intestinales.....	30
II-3-2-Pathogénie de l'infection de la bourse de Fabricius.....	30
II-3-3- Pathogénie des manifestations respiratoires.....	31
II-3-4- Pathogénie des autres manifestations.....	31
<b>II-4- Symptômes et lésions.....</b>	<b>32</b>
II-4-1- Symptômes.....	32
II-4-2- Lésions.....	34
<b>II-5- Défense de l'hôte et réponse immunitaire.....</b>	<b>34</b>
II-5-1- Le rôle de l'immunité humorale.....	35
II-5-2- Le rôle de l'immunité cellulaire.....	35
<b>II-6- Association de Cryptosporidium aviaires avec d'autres entités pathologiques..</b>	<b>36</b>
II-6-1- Bactéries.....	36
II-6-2- Virus.....	36
II-6-3- Champignons.....	36
II-6-4- Parasites.....	36
<b>Chapitre III : Diagnostic.....</b>	<b>38</b>
<b>III-1- Détection du parasite sur animal vivant.....</b>	<b>38</b>
III-1-1- Examen des fluides biologique.....	38

III-1-2- Diagnostic sérologique.....	40
<b>III-2- Détection post-mortem du parasite.....</b>	<b>41</b>
III-2-1- Examen histologique.....	41
III-2-2- Examen de raclage .....	42
<b>Chapitre IV : Traitement et prophylaxie.....</b>	
<b>IV-1- Les essais de lutte médicale contre la cryptosporidiose aviaire.....</b>	<b>43</b>
IV-1-1- Efficacité des anti-infectieux.....	43
IV-1-2- Efficacité des antiparasitaires .....	43
IV-1-3- Efficacité de divers agents testés de façon spécifique .....	43
IV-1-4- Efficacité des agents non-spécifique.....	44
<b>IV-2- Prophylaxie.....</b>	<b>44</b>
IV-2-1- Prophylaxie médicale.....	44
IV-2-2- Prophylaxie sanitaire.....	44
<b><i>Partie expérimentale</i></b>	
<b>I- Objectifs.....</b>	<b>46</b>
<b>II- Matériel et Méthodes.....</b>	<b>46</b>
<b>II-1. Matériel.....</b>	<b>46</b>
II-1.1. Zone étudiée.....	46
II-1.1.1. Climat de la wilaya.....	47
II-1.2. Élevages.....	47
II-1.2.1. Espèces étudiées et souches.....	47
II-1.2.2. Taille des élevages .....	48
II-1.2.3. Type de bâtiments.....	48
II-1.3. Période d'étude.....	48
II-1.4. Matériel de laboratoire.....	48
<b>II-2. Méthodes.....</b>	<b>48</b>
II-2.1. Protocole de l'étude (figure 3).....	48
II-2.1.1. Protocole de prélèvements.....	50
II-2.1.2. Techniques utilisées pour la mise en évidence de <i>Cryptosporidium</i> .....	50
II-2.1.3. Analyse statistique .....	58

<b>III- Résultats et discussion.....</b>	<b>59</b>
<b>III-1- Observation au microscope optique .....</b>	<b>59</b>
III-1-1- Examen des matières fécales et des raclages.....	59
III-1-2- Examen histologique.....	60
III-1-2-1- Principales lésions histologiques rencontrées.....	60
III-2-1- Prévalence globale.....	64
III-2-2- Prévalence absolue.....	64
III-2-2-1- Variation de la prévalence selon l'âge.....	64
III-2-2- 2- Variation de la prévalence selon la saison.....	67
III-2-2-3-Variation de la prévalence en fonction des conditions d'élevage.....	68
III-2-2- 4- Variation de la prévalence en fonction de la souche (potentiel généétique).....	70
III-2-2-5- Variation de la prévalence en fonction des localisations de <i>Cryptosporidium</i> sp.....	72
<b>III-3- Prévalence de la cryptosporidiose chez la dinde.....</b>	<b>75</b>
III-3-1- Prévalence globale.....	75
III-3-2- Prévalence absolue.....	75
III-3-2-1- Variation en fonction des conditions d'élevage .....	75
III-3-2-2- Variation de la prévalence en fonction des localisations de <i>Cryptosporidium</i> sp.....	77
III-3-2-3- Variation de la prévalence de <i>Cryptosporidium</i> sp. en fonction de la souche.....	78
III-4- Signes cliniques et lésions.....	79
<b>Conclusion .....</b>	<b>81</b>

## Références bibliographique

## Annexes

# Introduction

Les cryptosporidioses sont des parasitoses dues à de petits protozoaires appartenant au groupe des coccidies. Les cryptosporidies colonisent essentiellement l'épithélium digestif, mais aussi respiratoire, biliaire et urinaire.

Les cryptosporidies, parasites cosmopolites, infectent un nombre important d'espèces de mammifères (y compris l'homme) et d'oiseaux, ainsi que, plus rarement, les reptiles et les poissons. Découvertes dans les glandes peptiques de l'estomac de la souris (Naciri, 1992), elles ont très longtemps été considérées comme des parasites commensaux, éventuellement responsables d'infections opportunistes (Current, 1991).

En 1971, Panciera *et al.* font la description d'un épisode de diarrhée sur une génisse de 8 mois, vraisemblablement imputable à des cryptosporidies, ce qui a focalisé l'attention des vétérinaires sur ce parasite. Depuis, le rôle pathogène des cryptosporidies a été largement démontré chez l'homme et l'animal. Le développement de l'épidémie de SIDA depuis le début des années 1980 fait de la cryptosporidiose une maladie très actuelle. En effet, l'absence de traitement étiologique à cette infection en fait l'une des premières causes de mortalité chez les individus immunodéficients (Naciri, 1989).

Chez les oiseaux, l'importance des cryptosporidioses est maintenant mieux connue, et il est dorénavant admis qu'elles entraînent des pertes économiques dans la filière avicole. Ainsi, des épisodes de morbidité, voire de mortalité, chez les oiseaux d'ornement sont régulièrement décrits (O'Donoghue, 1995).

De plus, l'infection à *Cryptosporidium* spp. constitue un problème dont l'importance économique inquiète de façon croissante l'industrie avicole dans plusieurs parties du monde. Kichou *et al.* (1996) rapportent l'infection par *Cryptosporidium* spp. dans 14 élevages de poulets de chair parmi 38 élevages étudiés, avec une prévalence de 37%.

En Algérie, l'impact sanitaire et économique de l'infection par *Cryptosporidium* sur la filière avicole est méconnu et mérite d'être étudié de manière approfondie.

L'objectif de notre étude consiste en l'évaluation de la prévalence réelle de la cryptosporidiose chez le poulet de chair et la dinde et les facteurs déterminant son apparition, ainsi que la précision des localisations les plus fréquentes de *Cryptosporidium* et de la sévérité des lésions associées.

**Partie**

**Bibliographique**

## Chapitre I : Étude des parasites

Afin de présenter les espèces aviaires de *Cryptosporidium* au sein du genre auquel ils appartiennent, l'historique et la classification de ce chapitre feront référence au genre *Cryptosporidium*. Les autres points de ce chapitre cibleront plus particulièrement les espèces aviaires, bien que leur développement parasitaire soit comparable à celui des autres espèces cryptosporidiennes.

### I-1- Historique

#### I-1-1- Chez les animaux

Ce parasite a d'abord été une découverte vétérinaire.

- En 1907, Tyzzer décrit pour la première fois un parasite unicellulaire vivant dans les glandes gastriques de la souris domestique (*Mus musculus*), qu'il nomme *Cryptosporidium muris* (Tyzzer, 1907).
- En 1910, Tyzzer propose la création d'un nouveau genre nommé *Cryptosporidium* afin de classer *C. muris* (Tyzzer, 1910).
- En 1912, Tyzzer fait la découverte d'une espèce distincte de *C. muris*, appartenant elle aussi au genre *Cryptosporidium* et vivant au niveau de la bordure en brosse de l'intestin grêle de la souris domestique. Il nomme cette nouvelle espèce *Cryptosporidium parvum* (Tyzzer, 1912).
- Chez les oiseaux, la première découverte date de 1929, lorsque Tyzzer décrit une espèce similaire à *Cryptosporidium parvum*, présente dans le caecum de poulets, sans la nommer (Morgan *et al.*, 2001).
- En 1955, Slavin découvre l'importance pathogénique de l'espèce *Cryptosporidium meleagridis* chez le dindon, lors d'épisodes diarrhéiques sévères et quelques mortalités entre 10 et 14 jours d'âge (Slavin, 1955 ; Current et Garcia, 1991).
- En 1986, Current *et al.* nomment *Cryptosporidium baileyi* l'espèce isolée de poulets de chair (*Gallus gallus*), distincte par ses caractères structuraux et son site de développement. Depuis, la distinction de ces deux espèces est clairement admise (O'Donoghue, 1995 ; Morgan *et al.*, 2001).
- Deux autres espèces ont été nommées chez les oiseaux : *Cryptosporidium anserinum* chez l'oie et *Cryptosporidium tyzzeri* chez le poulet, mais ne sont pas considérées comme valides étant donné l'absence d'informations réellement démonstratives (Morgan *et al.*, 2001).

- De même, des cryptosporidies isolées d'autruches (*Struthio camelis*) n'ont pu être transmises à d'autres espèces aviaires (dont le poulet), faisant suspecter une espèce supplémentaire (Gajadhar 1993, 1994).
- *C. galli* est décrit dans le proventricule des poules par Pavlasek (1999, 2001).
- En 2003, redescription d'une troisième espèce (rapportée ensuite par des données moléculaires) chez les oiseaux et nommée *C. galli* (Ryan *et al.*, 2003).

### **I-1-2- Chez l'homme**

Leur présence fut signalée chez l'homme en 1976 : 2 cas, l'un décrit par Meisel *et al* chez un patient immunodéprimé, l'autre par Nime *et al* (1976) chez un enfant immunocompétent, vivant en zone rurale (Nime *et al.*, 1976 ; De Graaf *et al.*, 1999). Mais ce n'est qu'après 1981, avec l'apparition du SIDA, que *Cryptosporidium* fut reconnu comme agent responsable de diarrhée chez l'homme.

Bien que la découverte du parasite cryptosporidien remonte à près d'un siècle, cela ne fait qu'une vingtaine d'années que le monde médical et vétérinaire considère l'importance de cette parasitose dans leur domaine respectif. Le genre *Cryptosporidium* est maintenant bien reconnu par les scientifiques mais la spéciation des cryptosporidies au sein de ce genre soulève encore de nombreuses controverses.

## **I-2- Position systématique**

### **I-2-1- Classification**

La classification des cryptosporidies fût longtemps et demeure controversée (tableau1).

**Tableau 1 :** Taxonomie de *Cryptosporidium* (O'Donoghue, 1995 ; Bryan *et al.*, 2007), basée sur la classification proposée par Levine en 1984-1985

Classification	Nom	Caractéristiques biologiques
Règne	Protiste	Organisme unicellulaire.
Phylum	Apicomplexa	Présence d'un complexe apical.
Classe	Sporozoasida	Reproduction asexuée et sexuée avec production d'oocystes
Sous-classe	Coccidiasina	Cycle biologique comprenant mérogonie (s), gamogonie et sporogonie.
Ordre	Eucoccidiorida	Mérogonie présente chez les vertébrés.
Sous-ordre	Eimeriorina	Développement indépendant de la microgamie et la macrogamie.
Famille	Cryptosporidiidae	Cycle monoxène ; Développement juste sous la surface de la cellule hôte ; Microgamètes sans flagelle.
Genre	<i>Cryptosporidium</i>	Absence de sporocyste.

La classification du genre *Cryptosporidium* avec les autres coccidies repose sur la base de grandes similitudes dans leurs caractéristiques morphologiques et leur cycle de vie. En effet, la plupart des coccidies se développent dans le tractus gastro-intestinal de vertébrés, par un cycle monoxène où tous les stades de développement se retrouvent chez le même hôte. La distinction de *Cryptosporidium* avec les vraies coccidies se base sur des différences morphologiques, ainsi que sur des particularités du cycle de vie qui seront présentées ultérieurement (Goodwin, 1989).

### I-2-2- Spéciation

Les différences de taille et de site de développement ont finalement conduit à admettre que le genre *Cryptosporidium* renfermait plusieurs espèces. La plupart de ces espèces ne sont pas acceptées par la majorité des taxonomistes (Morgan *et al.*, 1999).

Au début, 6 à 8 espèces au sein du genre *Cryptosporidium* étaient reconnues comme valides : *C. muris*, *C. parvum*, *C. felis* et *C. wrairi* chez les mammifères, *C. meleagridis* et *C. baileyi* chez les oiseaux, *C. serpentis* chez les reptiles et *C. nasorum* chez les poissons (Fayer *et al.*, 2000).

En 2000, une nouvelle classification est établie avec 10 espèces différentes, dont deux espèces nouvellement décrites : *C. andersoni* chez les bovins et *C. saurophilum* chez les poissons (Lindsay *et al.*, 2000).

Bien que plus de 20 espèces de ces coccidies aient été décrites sur la base animal-hôte chez qui elles ont été isolées, la spécificité d'hôte comme critère de spéciation apparaît mal fondée puisque certaines espèces ont perdu une telle spécificité. La définition et l'identification des espèces du genre sont en changement permanent, avec en plus de nouvelles espèces fondées sur des critères moléculaires. Actuellement, 18 espèces de *Cryptosporidium* sont considérées comme valides.

En plus des espèces validées, il existe plus de 40 génotypes de *Cryptosporidium* (Anonyme, 2008). La classification du genre *Cryptosporidium* fut et reste encore un sujet de discordance parmi les chercheurs.

### I-3- Cycle biologique

#### I-3-1-Schéma du cycle

Le déroulement de ce cycle est illustré par la figure 1.

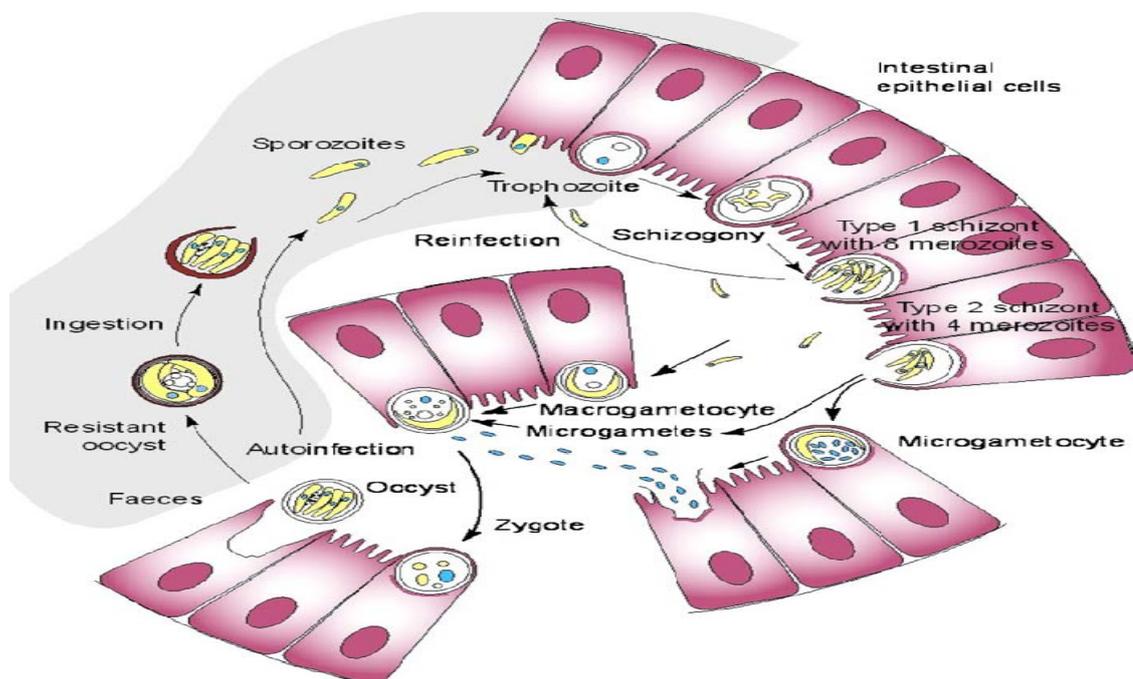


Figure 1 : Cycle de développement de *Cryptosporidium* sp (d'après Smith *et al.*, 2007)

*Cryptosporidium* sp. a un cycle de développement complexe débutant par l'ingestion de sa forme de résistance, l'ocyste sporulé, directement infestant et éliminé dans les selles de

tout individu ou animal hôte. Ce cycle est monoxène (toutes les étapes du développement parasitaire se déroulent chez un même hôte), avec une phase sexuée aboutissant à la formation d'oocystes immatures qui subissent une sporulation endogène pour devenir des oocystes matures potentiellement infectants.

### I-3-2- Étapes et chronologie

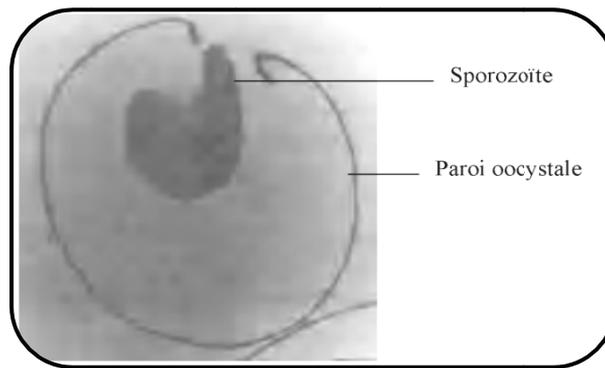
Ce cycle peut être divisé en deux phases principales :

- Une phase interne, chez l'hôte, comprenant une mérogonie ou schizogonie (multiplication asexuée), une gamogonie ou gamétogonie (production sexuée) et une sporogonie (sporulation) (Chermette et Boufassa-Ouzrout, 1988).
- Une phase externe, représentée par la survie des oocystes excrétés dans le milieu extérieur (Naciri, 1992).

#### a) La phase interne

- L'excystation

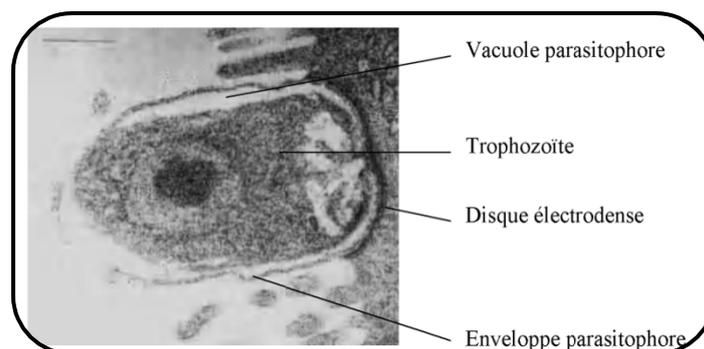
Pour que le cycle parasitaire soit initialisé, l'hôte doit ingérer des oocystes infectants. Une fois ingérés, et sous l'effet des facteurs réducteurs, du dioxyde de carbone, des enzymes pancréatiques, des sels biliaires, une température idéale de 37°C et un pH entre 6,8 et 7,4 *in vitro*, l'oocyste libère les 4 sporozoites mobiles qu'il contenait (Fayer et Leek., 1984). Cependant, des sporozoites peuvent excyter dans des solutions d'acide taurocholique à 37°C, en absence de trypsine (Woodmansee, 1987). Ceci explique en partie l'aptitude de *Cryptosporidium* à infecter des sites extra-intestinaux comme l'appareil digestif supérieur, l'appareil respiratoire et urinaire ainsi que la conjonctive. De plus, il a été montré que *Cryptosporidium baileyi* pouvait excyter en présence d'enzymes pancréatiques et de sels biliaires de porc ou de chèvre (Sundermann *et al.*, 1987). Ce n'est donc pas une impossibilité d'excystation qui empêche les cryptosporidies aviaires de se développer chez les mammifères.



**Figure 2 :** Un sporozoïte excystant de l'oocyste (microscopie électronique à transmission) (d'après Petry et Harris., 1999).

Cette étape rapide est favorisée par la présence, sur la paroi oocystale, d'une ligne de suture linéaire couvrant d'un tiers à la moitié de la circonférence de l'oocyste (O'Donoghue, 1995).

Les sporozoïtes sortent donc activement de l'oocyste et se déplacent grâce à des mouvements de reptation par contraction de leur système microtubulaire (Euzeby, 1987 ; Soares, 2003), puis s'attachent à l'épithélium de la cellule hôte et se transforment en trophozoïtes en s'enfermant dans une vacuole parasitophore qui leur confère une position intracellulaire mais extracytoplasmique (d'où la difficulté des traitements, les médicaments atteignant difficilement le parasite).



**Figure 3 :** Trophozoïte dans son enveloppe parasitophore (microscopie électronique à transmission) (d'après Peeters et Villacorta., 1995).

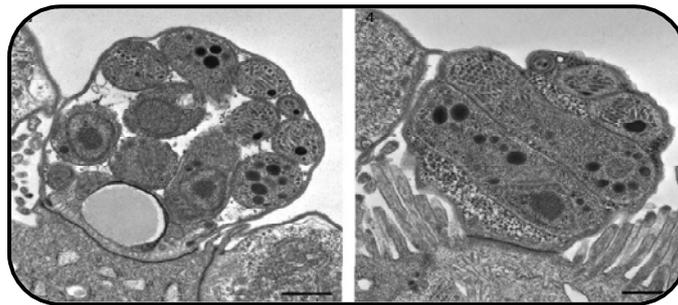
Cette invasion de la cellule hôte semble déterminée et conduite par le parasite, les coccidiens n'utilisant généralement pas les processus phagocytaires de la cellule hôte. Le

protozoaire modifie la membrane cellulaire grâce aux lipides et aux protéines présents dans les organites du complexe apical (Tzipori et Griffiths, 1998).

- **La multiplication asexuée ou mérogonie**

Dans sa vacuole parasitophore, le trophozoïte, après trois divisions nucléaires, donne naissance à un méronte de type I contenant huit cellules filles ou mérozoïtes de type I créées par bourgeonnement (Morin, 2002). A la maturité du méronte de type I, les mérozoïtes sont libérés dans la lumière intestinale par rupture de l'enveloppe parasitophore (Euzéby, 1987). Une fois libérés, les mérozoïtes I infectent les cellules voisines et présentent alors deux destinées :

- Soit ils initient une mérogonie de type II.
- Soit ils initient une nouvelle mérogonie de type I, ce qui permet une amplification du développement parasitaire. Ce recyclage des mérozoïtes est une des particularités du cycle de *Cryptosporidium* (O'Donoghue, 1995).



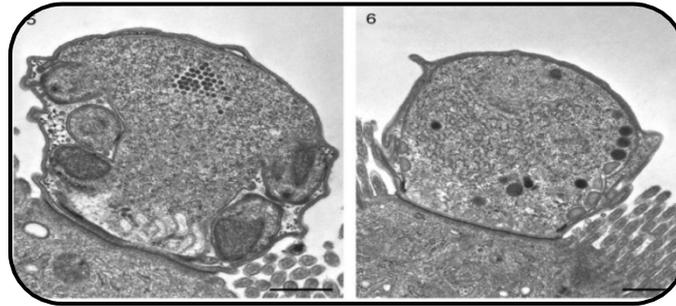
**Figure 4 :** Méronte de type I (à gauche) et méronte de type II (à droite) (microscopie électronique à transmission) (d'après Tzipori et Ward., 2002).

Les mérontes II ne libèrent que 4 mérozoïtes de type II. Ces mérozoïtes de type II vont donner naissance aux stades de développement sexuel.

- **La reproduction sexuée ou gamogonie**

Toujours par invasion cellulaire et formation d'un trophozoïte, les mérozoïtes de type II se différencient soit en microgamontes (gamontes mâles), soit en macrogamontes (gamontes femelles).

Le macrogamonte ne subit pas de divisions nucléaires mais semble plutôt accumuler des réserves (vacuoles lipidiques et polysaccharidiques) (Euzeby, 1987). Il se transforme ensuite en macrogamète qui restera dans sa vacuole parasitophore. Le microgamonte produit 12 à 16 microgamètes cunéiformes non flagellés (Euzeby, 1987 ; O'Donoghue, 1995). A maturité, les microgamètes sont libérés dans la lumière intestinale et peuvent alors pénétrer un macrogamète afin de féconder et de former le zygote.



**Figure 5 :** Microgamète (à gauche) et macrogamète (à droite) (microscopie électronique à transmission) (d'après Tzipori et Ward., 2002).

#### • Sporogonie

Elle se déroule *in situ*. Tous les oocystes retrouvés dans la lumière intestinale contiennent 4 sporozoïtes nus (absence de sporocyste) (Euzeby, 1987).

A maturité, deux types d'oocystes sont libérés dans la lumière intestinale :

- 10 à 20% à paroi mince (une seule membrane), qui libèreront facilement leurs sporozoïtes dans le tractus digestif et participent au phénomène d'auto-infection, donnant lieu à un nouveau cycle de développement chez le même hôte.
- 80 à 90% d'oocystes à paroi épaisse (2 couches de chitine et 3 membranes), qui constitueront la forme de résistance et de transmission, éliminés dans les selles de l'hôte et sont directement infectants.

#### **b) La phase externe**

Les oocystes éliminés constituent la forme de résistance, de dissémination et de transmission des cryptosporidies (Gati, 1992). Ils peuvent survivre plusieurs mois dans la litière, les murs et le matériel d'élevage (Mosele, 1998).

Les particularités du cycle de *Cryptosporidium* (recyclage des mérozoïtes ou rétro-infection et production d'oocystes à paroi mince excystant dans l'hôte, auto-infection

endogène) permettent d'expliquer, au moins partiellement, la rapidité d'installation d'infections importantes et la pérennité de celles-ci (jusqu'à 21 jours d'infection intestinale) (Naciri, 1992).

### **I-3-3- Particularités du cycle évolutif des espèces aviaires de *Cryptosporidium***

#### **a) Particularité du cycle évolutif de *Cryptosporidium baileyi* (figure 6)**

Le cycle de *Cryptosporidium baileyi* possède un troisième type de mérontes à 8 mérozoïtes qui vont initier la gamogonie. Ceux-ci sont de petite taille (3,6 x 1,1 µm) et beaucoup moins mobiles que les mérozoïtes I.

Dans l'appareil digestif, la schizogonie débute 12 heures après l'ingestion des oocystes et dure environ soixante heures pour parvenir à la formation des mérontes III. Les oocystes à paroi épaisse, forme infectante, sont retrouvés à partir de 4 jours.

Entre la deuxième et la huitième heure après l'inoculation par voie orale, les stades de développement sont confinés à l'ileum et au gros intestin. A partir de 12 heures post-inoculation (hpi), le parasite commence à coloniser le cloaque. Aucun parasite n'est décelé dans la bourse de Fabricius avant 72 hpi. Après 96 hpi, l'infection est cantonnée au cloaque et à la bourse de Fabricius (Current *et al.*, 1986).

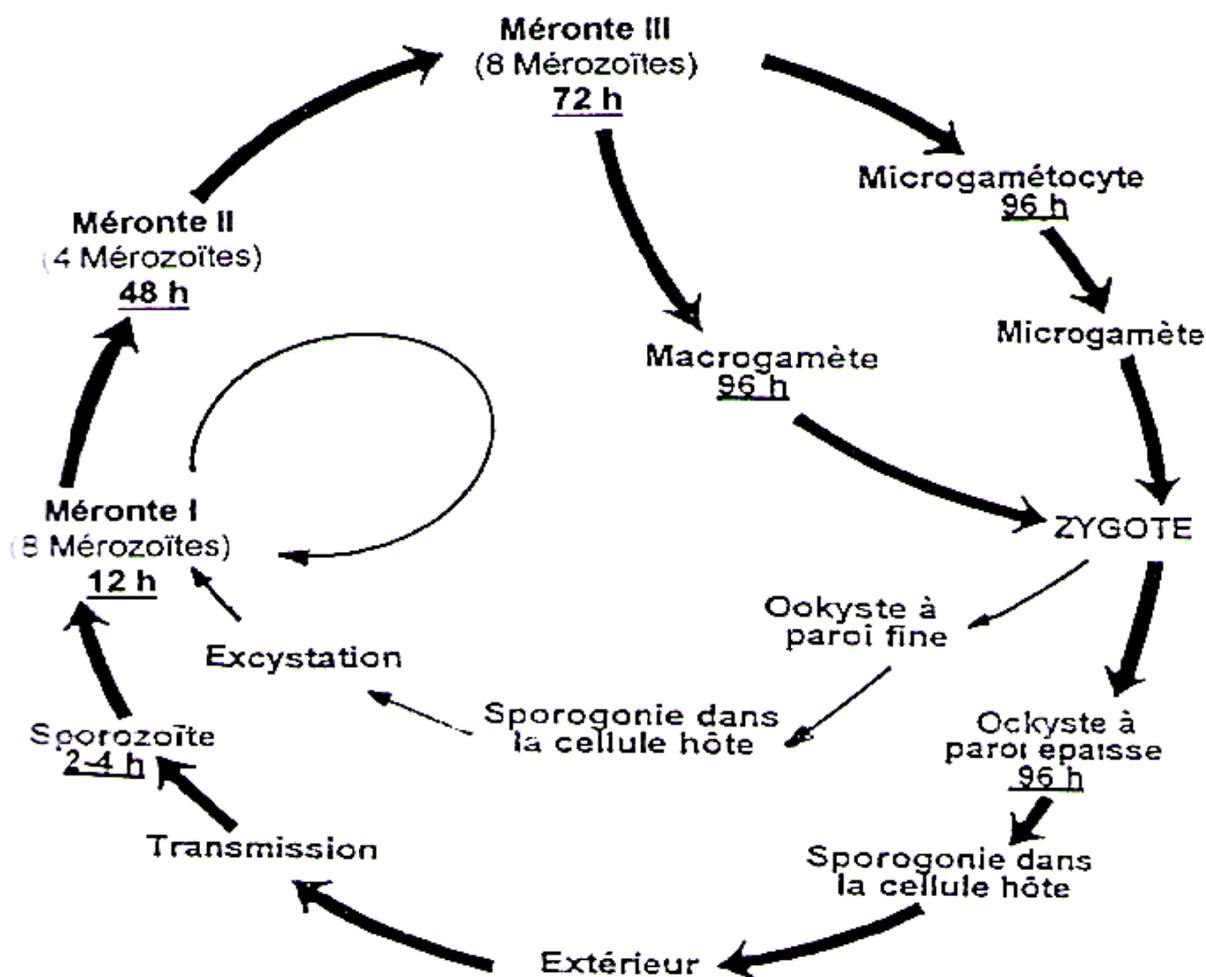


Figure 6 : Cycle de développement de *Cryptosporidium baileyi* (Current *et al.*, 1986)

### b) Particularités du cycle évolutif de *Cryptosporidium meleagridis*

Lors de l'étude de référence (Slavin, 1955), les résultats étant obtenus après inoculation par voie orale d'oocystes, certaines observations sont remarquables :

- Une seule génération de schizontes retrouvée.
- Rapprochement des gamétocytes.
- Oocystes non sporulés libres.

Il a été montré que les oocystes de *Cryptosporidium meleagridis* sont sporulés dans les fientes de dindons infectés naturellement ou expérimentalement (Lindsay *et al.*, 1989). La chronologie d'apparition des différents stades, dans le tube digestif (après inoculation *per os*), est assez proche de celle rapportée pour *C. baileyi* (Mosele, 1998).

- Sporozoïtes : 2-4 h.

- Trophozoites : 6 h.
- Mérontes matures : 12 h.
- Microgamétocytes : 54 h.
- Oocystes non sporulés à paroi épaisse : 72 h.

### c) Particularités du cycle évolutif de *Cryptosporidium galli*

A la différence d'autres espèces aviaires, les étapes de cycle de vie de *C. galli* se développent au niveau des cellules épithéliales du proventricule et pas dans le tractus respiratoire ou des intestins (Pavlassek 1999, 2001).

#### I-4- Morphologie des stades parasitaires

Les différents stades de développement des cryptosporidies peuvent être divisés en trois groupes morphologiques :

- La forme extracellulaire statique : l'oocyste.
- Les formes extracellulaires mobiles ou libres : le sporozoite, les mérozoites de première et deuxième génération, et le microgamète.
- Les formes intracellulaires, dans leur vacuole parasitophore : le trophozoite, les mérontes de première et de deuxième génération, le microgamonte et le macrogamonte.

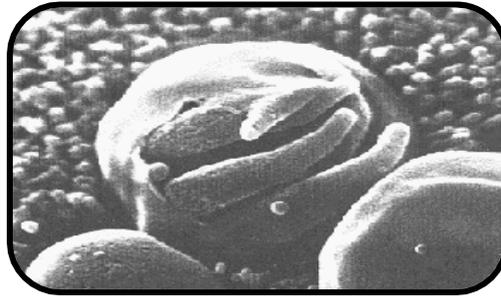
##### I-4-1- L'oocyste

Parmi les coccidies, les oocystes de *Cryptosporidium* sont les plus petits, ils sont sphériques à ovoïdes et contiennent 4 sporozoites libres agencés autour d'un corps résiduel cristallin mesurant un micron de diamètre. Le micropyle et les granules polaires, qui caractérisent les autres coccidies ne sont pas retrouvés (Uni *et al.*, 1987 ; Gati, 1992).

La paroi oocystale fait 40 à 50 nm d'épaisseur, composée de trois couches (Nanduri *et al.*, 1999 ; Harris et Petry, 1999).

La couche externe est constituée d'une matrice polysaccharidique dont le glucose est le sucre prédominant. Il est immunogène, hautement résistant aux protéases, et montre toutes les caractéristiques d'un glycocalyx. Cette paroi apparaît complètement différente de la structure des parois bactériennes, fongiques ou végétales connues (Harris et Petry, 1999). Elle est probablement responsable de la résistance de l'oocyste dans le milieu extérieur.

Le corps résiduel consiste en une vacuole lipidique et des granules d'amylopectine de différentes tailles. Il est interprété comme une structure de réserve (Petry et Harris, 1999).



**Figure 7** : Trachée de dinde bordée de nombreux oocystes (microscopie électronique à transmission) (Gardiner *et al.*, 1988).

La taille des oocystes varie selon l'espèce (tableau II) :

**Tableau 2** : Comparaison morphométrique des oocystes de *Cryptosporidium meleagridis*, *C. baileyi*, *C. galli* et des génotypes aviaires pour lesquels les dimensions sont disponibles (Ryan, 2010).

Espèce/ génotype	Longueur de l'oocyste (µm)	Largeur de l'oocyste (µm)
<i>C. meleagridis</i>	4,5-6,0	4,2-5,3
<i>C. baileyi</i>	6,0-7,5	4,8-5,7
<i>C. galli</i>	8,0-8,5	6,2-6,4
Génotype aviaire II	6,0-6,5	4,8-6,6
Génotype aviaire III	7,5	6,0
Génotype aviaire IV	8,25	6,3
Génotype de la bécasse eurasiennne	8,5	6,4

#### I-4-2- Les formes mobiles

Ce sont les sporozoïtes, les mérozoïtes de type I, II, III et les microgamètes. Ils sont libres dans la lumière intestinale et ont un rôle de reconnaissance et de recherche de leur cible, l'entérocyte ou le macrogamète. Leur durée de vie moyenne est très courte et ils doivent donc atteindre leur cible très rapidement (Tzipori et Griffiths, 1998).

##### a) Le sporozoïte

Le sporozoïte est une cellule mobile allongée, virguliforme, d'environ 5  $\mu\text{m}$ , entourée d'une triple membrane caractéristique des formes "zoïtes" des Apicomplexa. Il présente une extrémité antérieure amincie (apex de la cellule) et une extrémité élargie (Euzeby, 1987). Il contient un noyau polaire situé dans le tiers postérieur, un réticulum endoplasmique abondant, un appareil de Golgi, de petits corps électrodenses et des organites spécialisés du complexe apical (Bourgouin, 1996 ; Petry et Harris, 1999).

Les sécrétions déchargées par les organites du complexe apical permettent probablement au sporozoïte d'envahir la cellule hôte et d'en modifier l'environnement intracellulaire afin de le rendre propice à la prolifération du parasite (Coombs, 1999).

Le réseau microtubulaire s'étend sous la double membrane interne du sporozoïte, il a un rôle de soutien et intervient dans les mouvements du parasite (Euzeby, 1987 ; Coombs, 1999).

#### b) Les mérozoïtes

Les mérozoïtes montrent les mêmes caractéristiques morphologiques que le sporozoïte. Leurs extrémités antérieure et postérieure sont arrondies, leur noyau est dépourvu de nucléole et ilq contiennent une variété de granules denses non identifiés. Chaque mérozoïte contient 28 microtubules sub-pelliculaires (Fayer et Ungar, 1986).

Sur le plan locomoteur, ils semblent cependant avoir moins de capacité de déplacement que les sporozoïtes. Ils se déplacent sous le gel protecteur des villosités et ils infectent souvent la cellule adjacente, voire la même cellule hôte qui les a libérés (Tzipori et Griffiths, 1998).

#### c) Le microgamète

Le microgamète est non flagellé, cunéiforme et il fait environ 1  $\mu\text{m}$  de longueur (Morin, 2002). Son noyau est oblong et occupe une grande partie du volume de cette forme parasitaire (Cheadle *et al.*, 1999).

Le processus de fécondation du macrogamète par le microgamète est très mal connu, mais le microgamète doit certainement traverser, sans les endommager, les deux membranes de l'enveloppe parasitophore pour pouvoir pénétrer le macrogamète. La possession par les microgamètes d'un perforatorium (Euzeby, 1987) à leur extrémité apicale, leur permettant de franchir cette enveloppe, n'est pas exclue. De plus, il semble que l'enveloppe parasitophore

du macrogamète à maturité s'amincit et s'accroche à celui-ci pour favoriser l'entrée du microgamète (Cheadle *et al.*, 1999).

### I-4-3- Les formes intracellulaires

Ces différents stades sont caractérisés par leur localisation intracellulaire dans une vacuole parasitophore. Cette position des cryptosporidies dans la cellule hôte est exceptionnelle, elle est qualifiée d'intracellulaire mais d'extracytoplasmique (Tzipori et Griffiths, 1998).

Les stades concernés sont : le trophozoite, les mérontes, le microgamonte et le macrogamonte.

#### a) Le trophozoite

Le stade trophozoite se retrouve après chaque pénétration cellulaire soit par un sporozoite, soit par un mérozoite (de type I ou II). Il est caractérisé par un grand noyau (1-1,3  $\mu$ ) contenant un gros nucléole, par la présence d'un organite de nutrition bien développé et par l'absence du complexe apical qui caractérise les sporozoites et les mérozoites (Uni *et al.*, 1987).

#### b) Les mérontes

Les mérontes de type I et de type III (chez *Cryptosporidium baileyi*) mûrs renferment huit mérozoites qui sont attachés par l'une de leurs extrémités à un corps résiduel. Ce dernier représente les restes du trophozoite. Le méronite de type I a un diamètre d'environ 4,5  $\mu$ m (Uni *et al.*, 1987).

Le méronite de type II mûr est morphologiquement identique au méronite de type I mais ne renferme que quatre mérozoites de seconde génération. Son diamètre est d'environ 3,7  $\mu$ m (Morin, 2002).

#### c) Les microgamontes

Ils sont rarement observés à cause probablement de leur vie brève. Ils renferment 12 à 16 microgamètes aflagellés et un corps résiduel (Tzipori, 1998). Le diamètre du microgamonte est d'environ 3,8  $\mu$ m (Morin, 2002).

Des organites ressemblant à des micronèmes ont été observés dans le corps résiduel d'un microgamonte de *C. baileyi* chez le poulet (Cheadle *et al.*, 1999). Cela suggère qu'au moins une partie du complexe apical des microgamètes serait fournie par la cellule mère (Morin, 2002).

#### d) Le macrogamonte

Le macrogamonte est volumineux (environ 5,1 µm de diamètre). Son cytoplasme contient de larges et nombreux granules d'amylopectine qui le différencient des trophozoïtes, un grand noyau excentrique et deux corpuscules contenant des précurseurs de la paroi oocystale (Fayer et Ungar, 1986).

### I-5- Espèces parasitaires et situation dans l'organisme

#### I-5-1- Espèces de *Cryptosporidium* décrites chez les oiseaux

La cryptosporidiose aviaire est considérée comme une infection parasitaire fréquente chez les oiseaux domestiques, de cage et les oiseaux sauvages (Sréter et Varga., 2000).

Actuellement, les oiseaux sont touchés par 3 espèces différentes (tableau 3) : *C. meleagridis*, *C. baileyi* et *C. galli* (Ryan *et al.*, 2003). L'infection à *C. parvum* chez le poulet est anecdotique et uniquement expérimentale (O'Donoghue, 1995).

**Tableau 3** : les espèces de *Cryptosporidium* décrites chez les oiseaux (Shemshadi *et al.*, 2010).

Espèce de <i>Cryptosporidium</i>	Hôte	Localisation*
<i>Cryptosporidium meleagridis</i>	Dinde ( <i>Meleagridis gallopavo</i> )	Iléon
<i>Cryptosporidium baileyi</i>	Poulet ( <i>Gallus gallus</i> )	Caecum
<i>Cryptosporidium galli</i>	Poulet ( <i>Gallus gallus</i> )	Proventricule

\* Lors de la première fois

*C. meleagridis*, décrit pour la première fois chez la dinde (*Meleagridis gallopavo*) par Slavin (1955), ensuite détecté chez beaucoup d'espèces aviaires et de mammifères (Ryan et Xiao, 2008), est la troisième espèce en prévalence qui infecte l'homme (Ryan, 2010).

*C. baileyi*, décrit chez les poulets par Current *et al.* (1986), est l'espèce de *Cryptosporidium* la plus commune rapportée dans la vaste diversité des espèces aviaires, à l'exception du colin de Virginie (Hoerr *et al.*, 1986).

*C. galli*, décrit dans le proventricule des poules par Pavlasek (1999, 2001), rapporté ensuite par des données moléculaires (Ryan *et al.*, 2003) est probablement l'espèce découverte dans le proventricule du pinson (Blagburn *et al.*, 1990) et nommée *C. Blagburni* (Morgan *et al.*, 2000). L'analyse de l'ARNr de *C. galli* et de *C. Blagburni* montre qu'il s'agit bien de la même espèce (Ryan *et al.*, 2003).

Quatre autres génotypes aviaires (I à IV) ont été décrits chez plusieurs espèces d'oiseaux par l'analyse de l'ARNr (Meireles *et al.*, 2006). Il y a également quatre génotypes retrouvés chez l'oie (I à IV) (Fayer, 2009). Un autre génotype a été décrit chez la bécasse des bois (Ryan *et al.*, 2003).

### I-5-2- Situation dans l'organisme

#### a) Appareil digestif

Chez les oiseaux, les cryptosporidies sont retrouvées dans la majeure partie du tube digestif. Même si la localisation préférentielle reste l'intestin (iléum, jéjunum, caecum, colon, cloaque) et la bourse de Fabricius, d'autres localisations moins fréquentes ont été signalées. Dans la première partie du tube digestif, le proventricule et les glandes œsophagiennes peuvent être parasités. Sur des poulets atteints de maladies de Marek, le parasite a même été décelé sur des empreintes de foie (Naciri et Mazzella 1988).

#### b) Appareil respiratoire

L'appareil respiratoire reste une localisation fréquente chez l'oiseau, il peut être colonisé par les cryptosporidies à tous les niveaux, des cavités nasales aux capillaires aériens.

- *C. baileyi* se localise à l'épithélium de la bourse de Fabricius et du cloaque du poulet, bien que la trachée et la conjonctive soient des sites d'infection mais à moindre degré (Gharagozlou *et al.*, 2006).
- *C. meleagridis* est un parasite iléal de la dinde, d'autres volailles et de l'homme et se développe aussi dans l'appareil respiratoire (cavités nasales, épithélium trachéo-bronchique) (Sréter et Varga, 2000).
- *C. galli* est présent dans le proventricule (surface et épithélium glandulaire).

#### c) Appareil urinaire

Quelques infections du tractus urinaire sont décrites, avec présence du parasite dans les uretères et les reins (bassinets, tubes collecteurs, tubes contournés distaux et proximaux) (Nakamura et Abe, 1988).

#### d) Conjonctive

Aussi bien lors d'infections naturelles qu'expérimentales, le développement des cryptosporidies dans l'épithélium conjonctival est décrit (Goodwin et Waltman, 1994).

#### e) Localisations exceptionnelles lors d'infections expérimentales (tableau 4)

Lors d'infections expérimentales, des cryptosporidies ont réussi à se développer dans plusieurs localisations (tableau 4) :

**Tableau 4** : Localisations exceptionnelles lors d'infection expérimentale

Organe	Espèce affectée	Voie d'inoculation	Inoculât	Références
Palais	Dindon	Orale	<i>C. baileyi</i>	Lindsay <i>et al.</i> , 1987a
	Poulet	Trachéale		Blagburn <i>et al.</i> , 1991
Duodénum	Caille	Orale	<i>C. meleagridis</i>	Guy <i>et al.</i> , 1987
Vésicule biliaire	Poulet	Biliaire	<i>C. baileyi</i>	Hatkin <i>et al.</i> , 1990
Sacs aériens	Poulet	Trachéale	<i>C. baileyi</i>	Blagburn <i>et al.</i> , 1987
	Dindon			Lindsay <i>et al.</i> , 1987a

Il semblerait que lorsque la possibilité leur est donnée d'accéder à un épithélium, même par des voies peu réalisables naturellement (la voie biliaire par exemple), le parasite parvient à s'y implanter. Néanmoins, pour pouvoir se développer, le parasite a besoin de cils ou de microvillosités épithéliales. L'étude conduite par Tadeja-Simborio et Itakura (1993) semble montrer que lorsque les microvillosités épithéliales ont disparu, le parasite ne peut plus se développer. De même, la destruction de l'épithélium cilié respiratoire par des colibacilles ou le virus de la bronchite infectieuse diminue nettement la densité de *Cryptosporidium* (Blagburn *et al.*, 1991).

## I-6- Spécificité d'hôte

## I-6-1- Chez les oiseaux

La spécificité d'hôte est très réduite, avec 7 ordres et plus d'une trentaine d'espèces concernées. Les cryptosporidies seraient donc très largement répandues et de nouvelles espèces hôtes seront sans nul doute découvertes en grand nombre.

L'espèce isolée est très rarement précisée, du fait de la grande difficulté de distinction actuelle entre les différentes espèces de *Cryptosporidium*. Le tableau V donne les résultats des expériences de transmission croisée entre différentes espèces d'oiseaux.

**Tableau 5** : Transmission de *Cryptosporidium* entre les espèces aviaires (Current *et al.*, 1986 ; Hoerr *et al.*, 1986 ; Lindsay *et al.*, 1986, 1987a, 1989 ; Gajadhar 1993, 1994)

Espèces souche	Espèce réceptrice	Souche	Résultats
Poulet	Canard domestique	<i>C. baileyi</i>	+
	Canard musqué	<i>C. baileyi</i>	+
	Colin de virginie	<i>C. baileyi</i>	-
	Coq de Guinée	<i>C. baileyi</i>	+
	Dindon	<i>C. baileyi</i>	+
	Oie	<i>C. baileyi</i>	+
	Faisan	<i>C. baileyi</i>	+
	Perdrix	<i>C. baileyi</i>	+
Dinde	Poulet	<i>C. meleagridis</i>	+
	Canard domestique	<i>C. meleagridis</i>	+
Caille commune	Poulet	?	+
Colin de virginie	Poulet	?	-
Faisan	Poulet	?	+
Autruche	Caille	?	-
	Dinde	?	-
	Poulet	?	-

Plusieurs faits sont intéressants à souligner :

- *C. baileyi* est l'espèce de *Cryptosporidium* la plus commune, rapportée dans la vaste diversité d'espèces aviaires, à l'exception du colin de Virginie (Hoerr *et al.*, 1986).
- *C. meleagridis* se transmet au poulet et au canard domestique. Des sous-types de *C. meleagridis* sont rapportés chez l'homme et les oiseaux, par l'analyse des gènes de l'ARNr (Glaberman *et al.*, 2001).
- Des cryptosporidies issues d'autruches provenant d'Afrique du Sud, dont les oocystes ont une taille proche de *Cryptosporidium meleagridis*, n'ont pu être transmises à des cailles, des

dindes et des poulets, suggérant encore une fois l'existence d'une autre espèce de *Cryptosporidium* (Gajadhar, 1993, 1994).

### I-6-2- Passage des cryptosporidies entre oiseaux et mammifères

De nombreuses études ont été réalisées afin de savoir si les cryptosporidies aviaires pouvaient se transmettre aux mammifères (tableau 6) :

**Tableau 6** : Essais de transmissions croisées d'oiseaux à mammifères

Espèce souche	Espèce réceptrice	Souche	Résultats	Références
Poulet	Chèvre	<i>C. baileyi</i>	–	Current <i>et al.</i> , 1986
	Cochon d'Inde	<i>C. baileyi</i>	–	Lindsay <i>et al.</i> , 1986
	Gerbille	<i>C. baileyi</i>	–	Lindsay <i>et al.</i> , 1986
	Hamster doré	<i>C. baileyi</i>	–	Lindsay <i>et al.</i> , 1986
	Porc	<i>C. baileyi</i>	–	Lindsay <i>et al.</i> , 1986
	Rat	<i>C. baileyi</i>	–	Lindsay <i>et al.</i> , 1986
	Souris	<i>C. baileyi</i>	–	Lindsay <i>et al.</i> , 1986 Current <i>et al.</i> , 1986
	Surmulot	<i>C. baileyi</i>	–	Lindsay <i>et al.</i> , 1986
	Veau	<i>C. baileyi</i>	–	Lindsay et Blagburn, 1990
Caille commune	Souris	?	–	O'Donoghue, 1987
Faisan	Souris	?	–	O'Donoghue, 1987
Autruche	Souris	?	–	Gajadhar, 1994

Ces études démontrent une impossibilité de passage de l'oiseau vers les mammifères, concluant à une absence de risque. Cependant, des études expérimentales de transmission montrent que *C. meleagridis* peut infecter les veaux, porcs, lapins, rats et souris (Akiyoshi *et al.*, 2003). De façon générale, les taux d'infection et de virulence de *C. meleagridis* pour les espèces mammifères sont semblables à celui de *C. parvum* (Akiyoshi *et al.*, 2003). Récemment, une infection naturelle à *C. meleagridis* a été rapportée chez un chien en République Tchèque (Hajdusek *et al.*, 2004).

L'infection des oiseaux par des oocystes issus de mammifères s'avère quant à elle difficile mais possible (Tzipori *et al.*, 1980) et facilitée par la voie intra-trachéale (Lindsay *et al.*, 1987).

**Tableau 7 :** Essais de transmissions croisées de mammifères à oiseaux (voie orale)

Espèce souche	Espèces réceptrice	Souche	Résultats	Références
Bœuf	Poulet	?	–	O'Donoghue, 1987
Cochon d'Inde	Poulet	?	–	Vetterling <i>et al.</i> , 1971
	Dinde	?	–	
Veaux	Poulet	?	+	Tzipori <i>et al.</i> , 1980

### I-6-3- Passage des cryptosporidies des oiseaux à l'homme (risque zoonotique)

Bien que les études aient montré que les infections cryptosporidiennes chez les espèces aviaires ne présentent pas une menace pour l'homme et que les espèces de *Cryptosporidium* sont spécifiques pour leurs hôtes (O'Donoghue, 1987), d'autres études montrent que les oiseaux peuvent agir comme vecteurs mécaniques et peuvent excréter des oocystes. *C. meleagridis*, infectant les dindes et les perroquets, représente une menace zoonotique connue.

Un cas de cryptosporidiose humaine due à *Cryptosporidium baileyi* a été signalé en Tchécoslovaquie (Ditrich *et al.*, 1991) chez un homme infecté par le VIH et traité depuis 4 ans par des immunosuppresseurs. Les cryptosporidies isolées, de caractères morphologiquement proches de ceux de *Cryptosporidium baileyi*, ont fait l'objet d'un essai de transmission croisée sur des poulets d'un jour. Les résultats obtenus correspondent avec ceux obtenus habituellement lors d'infections expérimentales à *Cryptosporidium baileyi* par voie orale et intra-trachéale (Blagburn *et al.*, 1987). Le cas de cet homme au système immunitaire fortement défaillant démontre que, bien que fortement improbable, le passage des cryptosporidies de l'oiseau à l'homme est néanmoins possible.

## Chapitre II : La Cryptosporidiose aviaire

### II-1- Définition de la cryptosporidiose

La Cryptosporidiose est une protozoose de découverte récente engendrée par le genre *Cryptosporidium* dont le cycle évolutif se déroule dans les cellules épithéliales des vertébrés. Cet organisme a été décrit pour la première fois par Tyzzer en 1907 au niveau de la muqueuse gastrique de souris. Par la suite, de nombreuses publications en ont fait état chez plusieurs espèces animales (Gati, 1992).

Chez la volaille, la cryptosporidiose fut décrite pour la première fois par Tyzzer en 1929, et ce n'est qu'après un demi-siècle que la maladie a été observée et rapportée par Fletcher *et al.* au niveau de la bourse de Fabricius de poulets (Kichou *et al.*, 1996).

### II-2- Épidémiologie

#### II-2-1- Répartition géographique

Les cryptosporidies des oiseaux sont des parasites cosmopolites, comme le montre leur distribution géographique :

◆ Amérique :

Canada (Tarwid *et al.*, 1985).

États-Unis (Hoerr *et al.*, 1978).

◆ Afrique :

Égypte (Ahmed *et al.*, 1995).

Maroc (Kichou *et al.*, 1996).

◆ Europe :

Espagne (Fernandez *et al.*, 1990).

France (Naciri et Mazzella, 1988).

RUSSIE (Pavlasek *et al.*, 1989).

◆ Asie :

Chine (Xhia *et al.*, 1991).

Japon (Itakura *et al.*, 1984).

◆ Océanie :

Australie (Mason et Hartley 1980).

### II-2-2- Prévalence

La prévalence est habituellement définie comme le pourcentage de sujets excréteurs d'oocystes de *Cryptosporidium* sp. Celle-ci varie parfois considérablement suivant les études, les techniques de détection oocystale utilisées et l'échantillon de la population avicole considérée (tranche d'âge de l'échantillon, statut clinique des animaux).

#### a) Prévalence globale

La prévalence globale étudie le cheptel avicole sans distinction d'âge ou de statut clinique de l'animal. Le tableau 8 fournit les taux de prévalence disponibles dans la littérature concernant les cryptosporidioses aviaires naturellement acquises. Ces résultats accusent de très fortes disparités, dues à plusieurs facteurs.

**Tableau 8 :** Prévalence des cryptosporidies chez les oiseaux.

Pays	Espèce	Examen	Signes cliniques	Prévalence % (positifs / total)	Références
Canada	Autruche	Copro	Non	8,5	Gajadhar, 1993
Chine	Poulet	Copro	Non	33,6	Xhia <i>et al.</i> , 1991
Corée	Poulet	Copro	?	15	Rhee <i>et al.</i> , 1991
États-Unis	Poulet	Histo	Oui	6,4	Goodwin et Brown, 1988
		Histo	Oui	10-60 ND	Goodwin <i>et al.</i> , 1996
		Copro	Oui	27,6	Ley <i>et al.</i> , 1988
	Dinde	Copro	Non	33,8	Woodmansee <i>et al.</i> , 1988
France	Canard	Copro	Non	28,7	Chauve <i>et al.</i> , 1991
Grèce	Poulet	Histo	Oui	24,2	Papadopoulou <i>et al.</i> , 1988
Maroc	Poulet	Histo	Oui	24	Kichou <i>et al.</i> , 1996
Roumanie	Dinde	Histo	?	14,8	Radu et Dan, 1985
	Poulet		?	13,6	
Russie	Poulet	?	?	38-100 ND	Pavlasek <i>et al.</i> , 1989

ND : non disponible.

Ces chiffres apportent des informations à considérer :

- Les taux de prévalence, généralement compris entre 10 et 60%, montrent l'importance de la présence des cryptosporidies dans les élevages.

- Une étude rétrospective sur 1.065 examens histologiques réalisés dans un laboratoire de Géorgie (USA) indique que *Cryptosporidium* est présent dans 6,4% des cas, ce qui en fait le deuxième parasite par son importance après *Eimeria* (9,9%) (Goodwin et Brown, 1988).

### **b) Prévalence absolue**

La prévalence de la cryptosporidiose montre une grande variabilité en fonction de plusieurs paramètres liés à l'hôte, au parasite ou à des agents extérieurs (âge des animaux, statut clinique, pratiques d'élevage et saison).

#### **• Variation en fonction de l'âge**

Classiquement, on décrit la cryptosporidiose comme une maladie du jeune animal : un grand nombre de cas de cryptosporidiose dans les élevages la situe entre 2 et 8 semaines d'âge chez les :

- Poulets (Goodwin *et al.*, 1996 ; Kichou *et al.*, 1996).
- Dindons (Glisson *et al.*, 1984 ; Tarwid *et al.*, 1985).
- Faisans (Sironi *et al.*, 1991).

Quelques cas où les animaux sont plus âgés, parfois même lors d'épisodes graves ont été notés :

- Poulets de 70-80 jours, avec une morbidité de 90% (Fernandez *et al.*, 1990).
- Poulets de 4 mois présentant de l'amaigrissement, de l'abattement et des signes de détresse respiratoire (Nakamura et Abe, 1988).

Chez les poulets, la maladie n'est pas néonatale, certains auteurs ne retrouvant pas de parasite chez les animaux âgés de moins de trois semaines (Kichou *et al.*, 1996). Par contre, les colins de Virginie déclarent souvent la maladie très jeunes, avec des épisodes de diarrhée profuse à partir de l'âge d'un jour (Hoerr *et al.*, 1986).

#### **• Variation en fonction du statut clinique (statut immunitaire)**

Dans l'espèce humaine, il existe une relation très nette entre l'état immunitaire de l'hôte et l'évolution de la cryptosporidiose (Chermette et Boufassa-Ouzrout, 1988).

Chez les oiseaux, bien qu'il semble plus difficile à établir, le même lien est maintenant bien admis. De même, l'interaction des cryptosporidies avec des virus immunodépresseurs

(virus de la maladie de Gumboro, virus de la maladie de Marek, réovirus) exacerbe l'effet pathogène des cryptosporidies (Naciri et Mazzella, 1988 ; Naciri *et al.*, 1989).

L'effet des thérapeutiques immunosuppressives est mal connu du fait de leur faible utilisation. Cependant, une étude expérimentale montre que des poulets traités à la dexaméthasone, puis infectés par voie orale, excrètent au total plus d'oocystes que les témoins (Awadalla *et al.*, 1995).

Une antibiothérapie prolongée a une action intense sur le système immunitaire, caractérisée par une diminution du nombre de plasmocytes dans le tube digestif, et risque donc de faciliter le développement des cryptosporidies (Silim et Rekik, 1992).

#### • Variation en fonction des conditions d'élevage

Les conditions d'élevage des animaux influent sur la circulation des cryptosporidies au sein de l'exploitation et favorisent donc la contamination. En effet, l'absence ou l'insuffisance de curage de la litière, de désinfection des locaux, et de vide sanitaire entre les lots successifs, entraînent le maintien du parasite dans le troupeau. De même, une densité excessive (en particulier lors des périodes de demande accrue) favorise les contacts entre les animaux et assure une propagation plus aisée de la maladie.

Ainsi, les élevages marocains infectés par des cryptosporidies montrent tous une hygiène défectueuse (Kichou *et al.*, 1996). De même, l'augmentation du nombre d'élevages infectés en Géorgie, de 1974 à 1988, serait, d'après les auteurs, due à l'extension de la pratique de la litière accumulée en élevage avicole (Goodwin *et al.*, 1990).

#### • Variation en fonction de la saison

Les conditions climatiques sont parfois suspectées de favoriser la contamination. Goodwin note une diminution de cryptosporidies durant l'hiver par rapport aux autres saisons (Goodwin et Brown, 1988), ainsi qu'une différence significative dans la prévalence de la cryptosporidiose entre le nord et le sud de la Géorgie (Goodwin et Brown 1989a). Cependant, ces différences ne sont pas expliquées, et le manque de données empêche de conclure sur l'influence du climat.

### II-2-3- Sources parasitaires et mode de contamination

#### a) Sources parasitaires

La forme infectante naturelle de *Cryptosporidium* sp. est l'oocyste, rejeté à l'extérieur de l'organisme infecté, principalement par les fèces et les sécrétions respiratoires (Fayer *et al.*, 1990). Ces oocystes sont en effet directement contaminants et permettent de reproduire la maladie chez les animaux exposés (Itakura *et al.*, 1985).

##### • Sources vivantes

La contamination directe est réalisée à partir des congénères d'une même espèce, malades ou porteurs sains, ou par des individus d'espèces différentes, en raison de l'absence de spécificité étroite des cryptosporidies. Le rôle des porteurs sains est très important étant donné le nombre considérable d'infections subcliniques rapportées. De plus, les animaux âgés, qui ne déclarent que rarement la maladie sous une forme clinique, représenteront une source de parasites pour les jeunes individus (Mosele, 1998).

##### • Sources inertes

La contamination indirecte, rendue possible par la grande résistance des oocystes cryptosporidiens dans le milieu extérieur, utilise des supports variés : litière, locaux, matériel d'élevage, alimentation et eau de boisson (O'Donoghue, 1995). Ainsi, de jeunes volailles placées dans un bâtiment ayant abrité un épisode de sinusites à cryptosporidies ont déclaré trois semaines plus tard des symptômes identiques (Glisson *et al.*, 1984).

#### b) Modes de contamination

Le mode principal de contamination est la voie orale. Cependant, chez les oiseaux, la voie respiratoire revêt une grande importance, en particulier pour *Cryptosporidium baileyi* qui ne provoque de signes cliniques que lorsqu'il est inoculé par voie respiratoire (Current *et al.*, 1986 ; Blagburn *et al.*, 1987).

Lors d'infections expérimentales, de nombreuses voies d'inoculation ont été essayées avec un développement des cryptosporidies dans des localisations variables :

**Tableau 9 :** Voies d'inoculation lors d'infections expérimentales chez les oiseaux.

Voie d'inoculation	Localisation principale	Référence
Orale	Appareil digestif et bourse de Fabricius Appareil respiratoire	Lindsay <i>et al.</i> , (1989) Lindsay <i>et al.</i> , (1986a, 1987a)
Trachéale	Appareil respiratoire Appareil digestif et bourse de Fabricius	Lindsay <i>et al.</i> , (1986a, 1987a) Lindsay <i>et al.</i> , (1989)
Cloacale	Cloaque et bourse de Fabricius	Lindsay <i>et al.</i> , 1987a
Nasale	Sinus et cavités nasales Cloaque	Lindsay <i>et al.</i> , 1986
Oculaire	Conjonctive Cloaque et bourse de Fabricius	Lindsay <i>et al.</i> , 1987b
Biliaire	Vésicule biliaire et canaux biliaires Cloaque et bourse de Fabricius	Hatkin <i>et al.</i> , 1990
Péritonéale	Appareil respiratoire Appareil digestif Cloaque et bourse de Fabricius	Lindsay <i>et al.</i> , 1987c
Veineuse	Absence de développement	Lindsay <i>et al.</i> , 1987c

Une étude conduite chez le poulet montre que l'injection d'oocystes par voie intraveineuse ne permet le développement de *Cryptosporidium* dans aucun organe (Lindsay *et al.*, 1987c). L'extension par contiguïté semble donc être l'hypothèse la plus vraisemblable.

Quelle que soit la voie d'inoculation, on retrouve *Cryptosporidium baileyi* dans le cloaque et la bourse de Fabricius. Ceci est vraisemblablement dû à une ingestion des sécrétions respiratoires ou conjonctivales (Lindsay et Blagburn, 1986).

#### II-2-4- Espèce hôte

Bien que la répartition des cryptosporidies soit très large dans les espèces aviaires, la sensibilité à l'infection diffère fortement suivant l'espèce cible. En effet, outre les spécificités d'hôte différentes des espèces de *Cryptosporidium* affectant les oiseaux, on observe des différences dans l'expression clinique de la maladie.

Ainsi, lors d'inoculation de *Cryptosporidium baileyi* par voie intra-trachéale, les poules déclarent de graves signes de maladie respiratoire entre le 12<sup>ème</sup> et le 18<sup>ème</sup> jour post-inoculation, souvent accompagnés de mortalité (Lindsay *et al.*, 1986a ; Goodwin et Brown, 1990). L'expression de la maladie est identique chez des dindons infectés de la même manière (Lindsay *et al.*, 1987a).

Dans les mêmes conditions, les canards expriment des signes cliniques entre le 5<sup>ème</sup> et le 14<sup>ème</sup> jour post-inoculation et présentent des lésions respiratoires du même type. Cependant, l'intensité des symptômes et des lésions est beaucoup plus modérée. De plus, l'excrétion des oocystes dure moins longtemps (Lindsay *et al.*, 1989) et le nombre de parasites retrouvés dans les organes est plus faible (Rhee *et al.*, 1995).

### II-2-5- Espèce parasitaire et voie d'inoculation

Chez le poulet, *Cryptosporidium baileyi* ne provoque des troubles importants que lorsqu'il est inoculé par voie intra-trachéale. Son inoculation par voie orale n'entraîne que la multiplication du parasite dans le tube digestif et la bourse de Fabricius, sans induire de signes cliniques (Blagburn *et al.*, 1987 ; Rhee *et al.*, 1995).

Les troubles diarrhéiques observés sont dus à *Cryptosporidium meleagridis* (Lindsay et Blagburn, 1990) et vraisemblablement à une autre espèce de *Cryptosporidium* chez les cailles, dont le développement s'accompagne d'une diarrhée sévère conduisant à la mort par déshydratation (Hoerr *et al.*, 1986).

Enfin, l'inoculation *per os* de *Cryptosporidium parvum* des mammifères est généralement suivie d'échec, alors que la voie intra-trachéale permet une multiplication dans le tractus respiratoire (Lindsay *et al.*, 1987).

### II-2-6- Résistance des différentes formes parasitaires

#### a) Les oocystes

L'oocyste est la forme de résistance du parasite. Il se montre très résistant vis-à-vis de conditions environnementales variées (O'Donoghue, 1995). Comme tous les oocystes coccidiens, ceux des cryptosporidies sont très résistants dans le milieu extérieur (Morin, 2002), mais pour initier un nouveau cycle parasitaire ils doivent rester viables tout en conservant leur pouvoir infectant.

Plusieurs études concernant l'effet du froid, la température, les rayons ultraviolets et la dessiccation sur la survie des oocystes ont été effectuées.

- Les oocystes conservés en solution aqueuse à température ambiante (15 à 20°C) restent viables pendant plus de trois mois (O'Donoghue, 1995).

- Les oocystes peuvent survivre jusqu'à 6 mois en milieu humide, même à basse température (4 C°). Ils survivent pendant plus d'une année en solution salée de Hanks à 4°C bien que la viabilité soit réduite de 70% (Morin, 2002). Des oocystes ont même été conservés pendant 18 mois à 4°C (Tzipori, 1998).
- Leur infectivité est perdue après un chauffage à 65 C° pendant au moins 30 minutes et après une minute à 72°C (Griffiths, 1998).
- Leur infectivité est perdue après une dessiccation pendant au moins 4 heures (O'Donoghue, 1995). De même la lyophilisation leur fait perdre leur pouvoir infectant (Harp et Goff, 1995).
- Les oocystes survivent à faible pH puisqu'ils résistent à l'acidité gastrique (Tzipori *et al.*, 1999).

#### **II-2-6-2- Les formes mobiles**

Les formes libres du parasite (sporozoïtes, mérozoïtes, microgamètes) sont les stades les plus fragiles du cycle de développement. Elles sont hautement vulnérables à l'environnement intestinal et sont rapidement inactivées par une variété d'éléments physiques, chimiques et biologiques incluant les anticorps spécifiques et les pH extrêmes (Tzipori et Griffiths, 1998).

Leur durée de vie moyenne *in vitro* est courte et dépend de leur propre réserve d'énergie. Elles doivent par conséquent atteindre et infecter la cellule hôte le plus vite possible. Leur survie dans l'intestin dépend de leur production massive et du fait qu'elles ne doivent pas se déplacer trop loin ou trop longtemps (Tzipori et Griffiths, 1998).

#### **II-2-7- Dose infectante**

Les expériences réalisées chez le poulet indiquent que lorsque la dose augmente, la période prépatente diminue et la période patente augmente (Levy *et al.*, 1988 ; Rhee *et al.*, 1995). De même, l'excrétion des oocystes est plus précoce avec une dose forte (Levy *et al.*, 1988). Ainsi, l'augmentation de la dose infectante provoque une infection plus précoce et plus durable mais sans entraîner de différences dans l'expression clinique ou lésionnelle.

### **II-3- Pathogénie, physiopathologie**

Les cryptosporidies étant très fréquemment associées à d'autres agents pathogènes, il a été pendant longtemps difficile de déterminer leur rôle propre et par conséquent de définir

leur pouvoir pathogène. Les infections expérimentales ont permis de mieux cerner leur pouvoir pathogène.

### II-3-1- Pathogénie des manifestations intestinales

La diarrhée est la conséquence directe des modifications morphologiques importantes subies par l'épithélium intestinal (destruction des microvillosités, atrophie et fusion des villosités et hypertrophie des cryptes) (Hoerr *et al.*, 1986 ; Goodwin et Brown, 1989). Le remaniement de la muqueuse intestinale consécutif au développement des cryptosporidies entraîne des perturbations fonctionnelles de l'épithélium digestif par diminution de la surface d'absorption, diminution de l'absorption d'eau, d'électrolytes et de certains nutriments, et une diminution des capacités enzymatiques (Morin, 2002).

La diarrhée peut également s'expliquer par une exsudation, l'examen microscopique révélant une entérite avec inflammation et hyperhémie de la muqueuse intestinale.

L'effet entérotoxique a été démontré par Guarino *et al.* (1994) sur des échantillons de jéjunum humain récupérés lors de chirurgie digestive. Son existence chez les oiseaux n'a pas été démontrée.

Il est à noter que les infections expérimentales, réalisées avec des isolats de *C. baileyi* par voie orale, conduisent à un développement du parasite dans l'intestin terminal et la bourse de Fabricius mais aucun signe de diarrhée n'est signalé (Current *et al.*, 1986). Les épisodes diarrhéiques décrits chez les oiseaux sont dus à *C. meleagridis*.

### II-3-2-Pathogénie de l'infection de la bourse de Fabricius

Le développement de *Cryptosporidium baileyi* s'accompagne pratiquement toujours d'une colonisation de la bourse de Fabricius. Si les lésions épithéliales représentent vraisemblablement une réaction tissulaire à l'invasion parasitaire, les lésions folliculaires font suspecter une action immunosuppressive des cryptosporidies (Kichou *et al.*, 1996).

Les changements ultra-structuraux observés dans les cellules de la bourse de Fabricius de poulets expérimentalement infectés, attestent d'un accroissement de l'activité protéosynthétique, composant au moins en partie la spoliation due au parasite (Tadeja-Simborio *et al.*, 1993).

### II-3-3- Pathogénie des manifestations respiratoires

Les lésions observées à tous les niveaux du tractus respiratoire lors d'infections naturelles expliquent les symptômes décrits (Hoerr *et al.*, 1978 ; Kichou *et al.*, 1996) : L'abondance de sécrétions s'explique par l'hyperhémie du chorion et par la dilatation des glandes cystiques. La disparition des cils et l'excès de mucus conduisent à une panne de l'escalator mucociliaire responsable de l'accumulation de débris et de cryptosporidies dans la lumière. L'encombrement bronchique en résultant explique les symptômes de maladie respiratoire observés : dyspnée, toux, éternuements, râles (Mosele, 1998).

Les inoculations de *C. baileyi* par voie intra-trachéale réalisées chez diverses espèces aviaires provoquent des lésions identiques, ce qui démontre bien la responsabilité du parasite (Blagburn *et al.*, 1987).

L'étude des changements ultra-structuraux des cellules trachéales de poulets infectés expérimentalement indique une augmentation de l'activité protéo-synthétique. Les cils subissent de profondes modifications (disparition, atrophie ou fusion), ainsi que les microvillosités des cellules cillées et des cellules caliciformes (ramification ou effacement) (Tadeja-Simborio *et al.*, 1993).

### II-3-4- Pathogénie des autres manifestations

La présence des cryptosporidies dans l'appareil urinaire reste rare. Généralement, les lésions ressemblent à celles déjà évoquées pour les autres organes (hypertrophie et hyperplasie épithéliale, atrophie des microvillosités, inflammation de la *lamina propria*) (Gardiner et Imes, 1984).

Lors de conjonctivite cryptosporidienne, les lésions consistent en une hyperplasie épithéliale et une réaction cellulaire dans le tissu sous-épithélial (Masson, 1986).

Un essai de reproduction des symptômes et des lésions par dépôt d'oocystes de *Cryptosporidium baileyi* sur la cornée de poulets et de dindons a été tenté. Le parasite s'est développé sur la conjonctive des poules (3/14) mais pas sur celle des dindons. Sur les poulets, les auteurs signalent l'absence de symptômes et de lésions (Lindsay *et al.*, 1987b). La pathogénie des conjonctivites à cryptosporidies n'est toujours pas connue, et reste peu étudiée du fait de leur rareté.

## II-4- Symptômes et lésions

### II-4-1- Symptômes

#### a) Infections naturelles

Les cryptosporidioses naturellement acquises se manifestent principalement chez les oiseaux sous trois formes : respiratoire, digestive et rénale (forme rare, généralement associée à d'autres agents pathogènes). Généralement, une seule forme est présente, mais la combinaison des trois a été observée (Lindsay et Blagburn, 1990 ; Ryan, 2010).

#### • Forme respiratoire

La maladie respiratoire a été rapportée chez le poulet (Itakura *et al.*, 1984 ; Kichou *et al.*, 1996), le dindon (Hoerr *et al.*, 1978 ; Tarwid *et al.*, 1985), la caille commune, le canard, le faisan (O'Donoghue *et al.*, 1987), la perdrix (Sironi *et al.*, 1991), le paon (Masson et Hartley, 1980), et les perruches (O'Donoghue *et al.*, 1987).

La cryptosporidiose respiratoire à *C. baileyi* du poulet peut entraîner une morbidité élevée et occasionnellement une mortalité. Initialement, la maladie est associée à du reniflement, de la toux et de la dyspnée, suivis par une extension de la tête pour faciliter la respiration. Les symptômes sévères de la maladie respiratoire peuvent durer 4 semaines après l'infection (Anonyme, 2008). La cryptosporidiose à *C. baileyi* de la dinde est similaire à celle du poulet.

#### • Forme digestive

Des entérites cryptosporidiennes ont été décrites chez les poulets (Kichou *et al.*, 1996), le dindon (Slavin, 1955), le colin de Virginie (Hoerr *et al.*, 1986).

Chez les poulets et les dindons, les symptômes digestifs sont modérés, alors que la maladie peut être plus grave et accompagnée de mortalité chez les colins et les perruches. Dans ce dernier cas, la diarrhée, très liquide et profuse, conduit à la mort par déshydratation (Mosele, 1998).

L'association des cryptosporidioses respiratoire et digestive est signalée par Itakura *et al.* (1984) et Kichou *et al.* (1990). Les cryptosporidies incriminées n'ont pas été déterminées.

En Grèce, 52,9% des animaux porteurs de cryptosporidies présentaient des symptômes respiratoires, 29,4% de la diarrhée et 17,6% une combinaison des deux (Papadopoulou *et al.* 1988).

### • **Forme rénale**

L'atteinte de l'appareil urinaire par les cryptosporidies est rapportée chez le poulet (Nakamura et Abe, 1988). Lors de cryptosporidiose à *C. galli*, les oiseaux, la tête maintenue sous l'aile, présentent un plumage ébouriffé, une réponse excessive aux stimuli extérieurs et un arrêt de croissance (Ryan *et al.*, 2003).

### **b) Infections expérimentales**

La plupart des études sur les cryptosporidies expérimentalement induites ont été conduites avec *C. baileyi* isolé du poulet.

L'inoculation orale de poulets (Current *et al.*, 1986 ; Sreter *et al.*, 1996), de dindons (Lindsay *et al.*, 1987a) ou de canards (Lindsay *et al.*, 1988), avec des oocystes de *Cryptosporidium baileyi* ne produit généralement pas de signes cliniques. Quelques oiseaux apparaissent léthargiques mais la plupart sont normaux.

De nombreuses études ont montré que *Cryptosporidium baileyi* était capable de produire une maladie respiratoire chez les poulets (Goodwin et Brown, 1990), les dindons (Lindsay *et al.*, 1987a) et les canards (Lindsay *et al.*, 1988) infectés par voie intra-trachéale. Les signes cliniques apparaissent entre le 5<sup>ème</sup> et le 7<sup>ème</sup> jour post-inoculation. Les principaux symptômes observés sont les râles, la dyspnée, les éternuements et la surcharge nasale.

La courbe de croissance des oiseaux infectés expérimentalement par *C. baileyi* est ralentie durant les deux premières semaines, le gain de poids étant minimum 5 à 7 jours après inoculation et une pigmentation de la carcasse ont été clairement démontrés (Blagburn *et al.*, 1987). Ce fait est souligné aussi bien lors d'infections par voie orale que par voie intra-trachéale, mais il est plus marqué dans le deuxième cas. Néanmoins, le retard est ensuite rapidement comblé, et vers l'âge de 4 semaines, il ne subsiste plus de différence de poids entre les lots témoins et les lots infectés (Goodwin et Brown, 1990).

Quelques études ont démontré que les dindons, les poulets (Woodmansee *et al.*, 1988), et les cailles communes (Zha et Jiang, 1994) sont sensibles à l'infection par *Cryptosporidium meleagridis*. Néanmoins les auteurs n'ont mis en évidence ni signes

cliniques, ni différence dans les gains de poids, ni lésions microscopiques (Woodmansee *et al.*, 1988).

Les infections expérimentales ont permis de mieux cerner la pathogénie de l'infection à *Cryptosporidium*. Des études sont encore nécessaires afin de connaître le rôle de parasites tels que *Cryptosporidium meleagridis* ou *Cryptosporidium* sp. du colin de Virginie.

#### II-4-2- Lésions

Lors d'affection naturelle, les lésions suivantes sont couramment décrites :

**Tableau 10** : Lésions couramment décrites lors d'affection naturelle par *Cryptosporidium* sp. (Goodwin *et al.*, 1988 ; Kichou *et al.*, 1996 ; Anonyme, 2008).

<i>Site d'infection</i>	<i>Lésions macroscopiques</i>	<i>Lésions microscopiques</i>
Trachée	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Excès de mucus (principale lésion).</li> <li>- Épaississement de la muqueuse.</li> <li>- Élimination d'un exsudat muco-cellulaire dans les voies aérifères.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Hypertrophie et hyperplasie des cellules épithéliales.</li> <li>- Destruction des cils.</li> <li>- Infiltration de la <i>lamina propria</i> par des macrophages, des hétérophiles, des lymphocytes et des cellules plasmatiques.</li> </ul>
Intestin	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Distension par un contenu liquide blanchâtre ou grisâtre et par des gaz.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Atrophie et fusion des villosités.</li> <li>- Disparition des microvillosités.</li> <li>- Hypertrophie des cryptes.</li> <li>- Remplacement de l'épithélium cylindrique par un épithélium cuboïde.</li> <li>- Infiltration de la <i>lamina propria</i> par des cellules inflammatoires.</li> </ul>
Proventricule		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Nécrose et hyperplasie des cellules de l'épithélium glandulaire.</li> <li>- Infiltration de la <i>lamina propria</i> par des cellules inflammatoires.</li> </ul>
Bourse de Fabricius	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Atrophie</li> <li>- Présence d'exsudat caséux dans sa lumière.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Hypertrophie et hyperplasie épithéliale.</li> <li>- Infiltration de la <i>lamina propria</i>.</li> <li>- Œdème inter-folliculaire.</li> <li>- Déplétion lymphocytaire.</li> </ul>
Reins	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pâles et hypertrophiés.</li> <li>- Présence de cristaux d'urates à la surface des tubules.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Épithéliums des tubes collecteurs, des tubes contournés et des uretères hypertrophiques et hyperplasiques.</li> <li>- Infiltration du tissu interstitiel par des cellules inflammatoires.</li> </ul>

#### II-5- Défense de l'hôte et réponse immunitaire

La sévérité de la cryptosporidiose chez les humains atteints de SIDA ou chez les enfants de moins de 2 ans n'est plus à démontrer (Fayer *et al.*, 1990 ; O'Donoghue, 1995). De

même, chez les volailles, l'intégrité du système immunitaire est nécessaire pour la résistance contre la maladie.

Chez les oiseaux, une première infection permet l'acquisition d'une résistance ultérieure à la maladie (Current *et al.*, 1986). Les mécanismes immunitaires mis en jeu sont encore mal connus mais font vraisemblablement intervenir de façon conjointe immunité humorale et à médiation cellulaire.

### **II-5-1- Rôle de l'immunité humorale**

Lors de cryptosporidiose, la présence d'anticorps circulants (IgA, IgG et IgM) a été mise en évidence (Current et Snyder, 1988). Après infection expérimentale, les anticorps sont décelés à partir de 4 à 9 jours après inoculation, le maximum étant atteint entre 14 et 28 jours après l'inoculation (Naciri *et al.*, 1994). La réponse est plus rapide et plus intense chez les oiseaux inoculés à 14 jours par rapport à ceux inoculés à 1 ou 7 jours, leur système immunitaire étant plus mature (Hatkin *et al.*, 1993). L'effet des anticorps dans la protection contre l'infection est encore mal connu.

### **II-5-2- Rôle de l'immunité cellulaire**

L'envahissement des épithéliums digestif et respiratoire par les cryptosporidies est suivi d'un afflux de cellules inflammatoires dans la *lamina propria*. Cette infiltration d'hétérophiles, de lymphocytes et de cellules plasmatiques témoigne de l'importance des réactions cellulaires dans la lutte contre l'infection. Ces cellules participent, par la production de facteurs vasomoteurs, à l'hyperhémie du chorion et donc à l'exsudation, en partie responsable des symptômes digestifs et respiratoires observés (Mosele, 1998).

L'observation de cryptosporidies phagocytées dans des macrophages aussi bien chez les mammifères (Marcial et Madara, 1986) que chez les oiseaux (Nakamura et Abe, 1988) laisse à penser que la phagocytose pourrait jouer un rôle dans la résistance à l'infection.

Des expériences de suppression sélective de l'immunité humorale ou cellulaire par des méthodes chimiques (Hatkin *et al.*, 1993) ou chirurgicales (Sreter *et al.*, 1996) précisent leur rôle réel. L'immunité cellulaire est prépondérante aussi bien pour la résistance à l'infection (symptômes plus graves chez les oiseaux traités à la cyclosporine A, antagoniste de la réaction

cellulaire) que pour l'acquisition de l'immunité, les animaux thymectomisés ne devenant pas résistants à une nouvelle infection.

Les mécanismes de défense immunitaire mis en jeu lors de cryptosporidiose font donc intervenir de façon plus importante l'immunité cellulaire que l'immunité à médiation humorale.

### **II-6-Association de *Cryptosporidium* aviaires avec d'autres entités pathologiques**

Lors de cryptosporidiose, l'association à des agents bactériens, viraux, fongiques ou parasitaires peut aggraver la maladie :

#### **II-6-1- Bactéries**

- ◆ *Escherichia coli* (Glisson *et al.*, 1984).
- ◆ *Salmonella* (Lindsay *et al.*, 1991).
- ◆ *Pseudomonas* (Ranck et Hoerr, 1987).
- ◆ *Streptococcus* (Glisson *et al.*, 1984).
- ◆ *Chlamydia* (Latimer *et al.*, 1992).
- ◆ Mycoplasmes (Randall, 1986).

#### **II-6-2- Virus**

- ◆ Maladie de Marek (Naciri *et al.*, 1989 ; Goodwin, 1995).
- ◆ Maladie de Gumboro (Kichou *et al.*, 1996).
- ◆ Maladie de Newcastle (Goodwin *et al.*, 1996).
- ◆ Réovirus (Goodwin *et al.*, 1996).
- ◆ Anémie infectieuse (Dobos-Kovacs *et al.*, 1994 ; Hornok *et al.*, 1998).
- ◆ Poxvirus (Itakura *et al.*, 1984).
- ◆ Herpesvirus (Goodwin *et al.*, 1996).

#### **II-6-3- Champignons**

- ◆ Aspergillose (Nakamura et Abe, 1988).
- ◆ Candidose (Latimer *et al.*, 1992).

#### **II-6-4- Parasites**

- ◆ *Eimeria* (Goodwin et Brown, 1988).
- ◆ *Hexamitia* (Sironi *et al.*, 1991).
- ◆ Syngames (Sironi *et al.*, 1991).

La majorité de ces infections étant accompagnées de signes cliniques, des expérimentations ont donc été réalisées afin de préciser le rôle des cryptosporidies lors des affections mixtes.

Les premières expériences concernent l'interaction des cryptosporidies et des réovirus (Guy *et al.*, 1987). Les résultats démontrent que les cryptosporidies assurent la promotion d'une infection systémique par le réovirus. De même, la présence du réovirus augmente le nombre et la distribution du parasite.

Blagburn *et al.* (1991) n'ont décelé aucune interaction entre les cryptosporidies et le virus de la maladie de Gumboro. Par contre, ils ont établi que la présence de colibacilles ou du virus de la bronchite infectieuse accentuent la sévérité des lésions dues aux cryptosporidies.

*Cryptosporidium baileyi* peut être hautement pathogène et peut se développer dans des organes inhabituels (le rein par exemple) si les poulets infectés sont exposés au virus de la maladie de Marek (Abbassi *et al.*, 1997).

Une équipe française a montré que l'association de *Cryptosporidium baileyi* avec une souche vaccinale modérément pathogène du virus de la maladie de Gumboro (souche BUR 706) entraîne une atrophie plus prononcée de la bourse de Fabricius (Abbassi *et al.*, 1997a).

Les résultats obtenus lors d'association avec d'autres parasites sont similaires. La présence d'*Eimeria tenella* entraîne une augmentation du nombre d'oocystes de *Cryptosporidium* sp. et une mortalité accrue (Goodwin et Brown, 1988).

L'ensemble de ces résultats montre très clairement que l'effet immunosuppresseur de certains virus accentue le développement des cryptosporidies ainsi que l'expression de la maladie.

Certains travaux laissent à penser que le parasite posséderait une action immunosuppressive (Guy *et al.*, 1987). Ce fait, qui semble spécifique aux oiseaux, pourrait s'expliquer par la colonisation de la bourse de Fabricius par les cryptosporidies et les modifications histologiques (en particulier la déplétion lymphocytaire) qu'elle implique (Kichou *et al.*, 1996).

## Chapitre III : Diagnostic

De nombreuses méthodes peuvent être utilisées pour mettre en évidence les cryptosporidies. Nous nous limiterons à celles couramment pratiquées.

### III-1- Détection du parasite sur animal vivant

#### III-1-1- Examen des fluides biologiques

La mise en évidence d'une infection cryptosporidienne sur un animal vivant se fait essentiellement par la recherche des oocystes dans les matières fécales ou les sécrétions respiratoires. De nombreuses techniques de coloration, de concentration et de marquage immunologique sont utilisables.

##### a) Le prélèvement

Bien que les oocystes soient très résistants, il est généralement conseillé de conserver les fèces récoltées à + 4°C (mais sans congélation) et à l'abri de l'air afin d'éviter une excystation prématurée et réduire le développement des bactéries et des moisissures. En outre, il est souvent recommandé de fixer les matières fécales avec du formol à 10% (Naciri *et al.*, 2001). Il est à noter que le meilleur résultat est obtenu en pratiquant un écouvillonnage énergique qui permet de dégager les oocystes de la muqueuse (Current, 1990).

##### b) Les techniques de concentration

La concentration des oocystes peut être réalisée par flottation, par sédimentation ou par l'utilisation alternée de ces deux méthodes. En général, une dilution, une filtration et une centrifugation améliorent ces techniques (O'Donoghue, 1995). Elles sont habituellement utilisées sur des échantillons pauvres en parasites.

##### • Concentration par flottation

Différentes solutions sont utilisées pour la flottation :

- ❖ Des solutions sucrées (dont la solution de Sheater) avec lesquelles Naciri (1994) a développé une technique rapide de flottation sur lame : une goutte de fèces et une goutte de solution de Sheater, puis on observe directement entre lame et lamelle sous le microscope.
- ❖ Une solution saturée de NaCl (O'Donoghue, 1995).

- ❖ Une solution de bichromate de potassium (Chermette et Boufassa-Ouzrout, 1988).
- ❖ Une solution de sulfate de zinc (O'Donoghue, 1995).
- ❖ Flottation en iodo-mercurate de potassium (Chermette et Boufassa-Ouzrout, 1988).

La flottation au sucre est la technique de référence. Elle présente une meilleure sensibilité (de 4.000 opg) que les techniques de coloration et offre la possibilité de quantifier les oocystes. Cependant, sa lecture est plus difficile et les oocystes sont rapidement déformés dans le milieu hypertonique (O'Donoghue, 1995).

#### • Concentration par sédimentation

Cette méthode utilise les liquides de mélange :

- ❖ Formol-éther (Chermette et Boufassa-Ouzrout, 1988)
- ❖ Formol-acétate d'éthyle (O'Donoghue, 1995).
- ❖ Eau-éther (Chermette et Boufassa-Ouzrout, 1988)

La sédimentation permet d'obtenir des oocystes très purifiés et son seuil de détection est de 10.000 à 50.000 opg (oocystes par gramme de matières fécales) (Mosele, 1998).

#### c) Les techniques de coloration

De nombreuses techniques sont utilisables pour colorer spécifiquement les oocystes de *Cryptosporidium* sp. Ces colorations sont généralement réalisées sur des frottis de matières fécales, mais elles peuvent également se faire suite à une concentration préalable des oocystes (Morin, 2002). Les principales techniques utilisées sont les suivantes :

- ❖ La coloration de Ziehl Neelsen modifiée, considérée comme la coloration de référence ; il en existe plusieurs variantes (Duhamel *et al.*, 1995).
- ❖ La coloration négative de Heine : Cette méthode est très fiable et très rapide à mettre en œuvre mais présente un inconvénient majeur : sa lecture est très limitée dans le temps (Naciri, 1994).
- ❖ La coloration de Kinyoun à froid, modifiée : Cette méthode est rapide, sensible et très spécifique mais le temps de décoloration s'avère en être le point délicat qu'il est important de maîtriser (Bryan *et al.*, 2007).
- ❖ La coloration aux fluorochromes (notamment à l'auramine O) : permet une lecture facile, mais elle est plus coûteuse (O'Donoghue, 1995).
- ❖ La coloration au bleu de méthylène /éosine.

❖ La coloration de Giemsa, mais elle ne constitue pas une bonne méthode pour les frottis de selles (risque de confusion avec les levures) (Gati, 1992).

Ces méthodes présentent l'avantage d'être, dans l'ensemble, rapides, simples et peu onéreuses. Cependant, elles ne permettent qu'une quantification très approximative de l'excrétion oocystale (Morin, 2002).

#### **d) Les techniques de marquage immunologique**

La plupart du temps, les animaux atteints de cryptosporidiose excrètent suffisamment d'oocystes dans leurs fèces pour que les techniques de concentration et de coloration précédemment décrites soient utilisables. Cependant, des techniques plus sensibles peuvent être nécessaires pour détecter des oocystes dans des prélèvements en contenant peu. Des anticorps polyclonaux ou monoclonaux spécifiques (en général à *Cryptosporidium parvum*) peuvent être utilisés dans des tests d'immunofluorescence directe ou indirecte. Les méthodes enzymatiques (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) semblent plus sensibles, plus spécifiques et surtout plus simples d'utilisation avec des kits commerciaux prêts à l'emploi (Current, 1990).

#### **III-1-2- Diagnostic sérologique**

Il est tout à fait possible de détecter les anticorps spécifiques anti-cryptosporidiens dans le sérum de l'hôte parasité, notamment par immunofluorescence ou par technique ELISA (Campbell *et al.*, 1983). Des recherches sont encore nécessaires avant que ces méthodes puissent rentrer dans une pratique courante.

Tzipori teste par immunofluorescence indirecte (IFI) des sérums provenant de 10 espèces différentes (dont le poulet) en utilisant comme source d'antigènes des segments d'intestins d'agneaux expérimentalement infectés (Tzipori et Campbell, 1981).

En 1988, une étude évalue l'intérêt des tests ELISA par rapport à l'immunofluorescence indirecte pour la détection des anticorps à *Cryptosporidium baileyi* (Current et Snyder, 1988). L'expérience montre que les tests ELISA, plus faciles à mettre en œuvre, sont aussi sensibles que l'IFI et qu'ils peuvent donc être utilisés dans le futur. De ce fait, toutes les études sérologiques conduites par la suite chez les oiseaux se sont appuyées sur des tests ELISA (Naciri *et al.*, 1994).

Les techniques sérologiques permettent de rechercher les porteurs asymptomatiques, et donc d'établir la prévalence des sujets ayant été en contact avec *Cryptosporidium*. Cependant, les immunoglobulines sériques n'apparaissant qu'en fin d'infection, la sérologie ne permet pas de dater exactement le moment de l'infection.

Aussi, l'utilisation des méthodes sérologiques n'offre d'intérêt que dans l'étude de la réaction immunitaire des oiseaux et pour la réalisation d'enquêtes précisant la prévalence de la cryptosporidiose dans les élevages.

### **III-2- La détection *post mortem* du parasite**

#### **III-2-1- Examen histologique**

La mise en évidence des différents stades des cryptosporidies dans des biopsies ou des coupes de tissus prélevés pendant l'autopsie a longtemps représenté le seul moyen de diagnostic de la cryptosporidiose. Ces prélèvements doivent être réalisés dans un délai de 6 heures après la mort, l'autolyse gênant ensuite considérablement la lecture des préparations.

##### **a) Coloration pour la microscopie optique**

Toutes les colorations classiques sont utilisables (Giemsa, acide périodique de Schiff, etc.), même si la plupart des auteurs semblent préférer la coloration à l'hématoxyline-éosine (Goodwin, 1989). Les cryptosporidies apparaissent comme de petites particules basophiles ovoïdes ou sphériques, de 3 à 5  $\mu\text{m}$  de diamètre, en surface des cellules épithéliales où elles semblent attachées à la bordure en brosse (O'Donoghue, 1995).

##### **b) Coloration pour la microscopie électronique**

L'examen en microscopie électronique permet la différenciation des stades et l'étude de leur ultrastructure. De plus, il est souvent utile pour différencier *Cryptosporidium baileyi* de *Cryptosporidium meleagridis* sur la base des différences morphométriques existant entre les deux espèces.

Les méthodes histologiques, longues et coûteuses, ne sont plus guère utilisées en diagnostic, et appartiennent désormais au domaine de la recherche (O'Donoghue, 1995).

### III-2-2- Examen de raclage

Comme nous l'avons vu précédemment, les coupes histologiques ne sont exploitables que sur des prélèvements frais (moins de 6 h après la mort de l'animal). Lorsque ce délai est dépassé, il est possible de pratiquer des raclages de muqueuses, et ce jusqu'à 24-36 heures *post mortem*, l'autolyse ne gênant pas.

Le prélèvement obtenu est étalé sur une lame, séché à l'air puis fixé à l'alcool en vue d'une coloration ultérieure. Les lames issues du raclage sont généralement colorées par la méthode de Ziehl-Neelsen modifiée ou la méthode de Giemsa (Chermette et Boufassa-Ouzrout, 1988). Sur certains organes, des empreintes (ou calques) permettent également de mettre en évidence les cryptosporidies (Naciri et Mazzella, 1988).

Ces techniques de détection *post mortem* ont été les premières utilisées pour la mise en évidence des infections à *Cryptosporidium* sp. Aujourd'hui, elles sont quasiment abandonnées et on leur préfère les techniques de détection des oocystes dans les matières fécales, plus rapides et moins onéreuses. Elles permettent toutefois de détecter la présence du parasite dans d'autres organes (notamment dans le tractus respiratoire) (Morin, 2002).

**Chapitre IV : Traitement et prophylaxie****IV-1- Les essais de lutte médicale contre la cryptosporidiose aviaire**

A l'heure actuelle, il n'existe aucun traitement étiologique réellement efficace pour lutter contre les cryptosporidies. Plus de 150 thérapeutiques ont été testées aussi bien chez l'animal que chez l'homme. Moins de 50 produits ont montré une activité détectable contre les cryptosporidies (Varga *et al.*, 1995).

Chez l'oiseau, lors de la plupart des épisodes rapportés dans la littérature, il n'est pas dit si les animaux se trouvaient sous traitement anticoccidien ou si un traitement a été tenté (Mosele, 1998).

**IV-1-1- Efficacité des anti-infectieux**

L'oxytétracycline a été inefficace pour traiter des paons atteints de cryptosporidiose respiratoire (Mason et Hartley, 1980). De même que l'amprolium et la chlortétracycline sur des sinusites chez le dindon (Glisson *et al.*, 1984). L'oxytétracycline, la néomycine et la furazolidone n'ont eu aucun effet sur des diarrhées cryptosporidiennes chez le colin de virginie (Hoerr *et al.*, 1986).

**IV-1-2- Efficacité des antiparasitaires**

Expérimentalement, quatre anticoccidiens (halofuginone, salinomycine, lasalocide, et monensin) ont été testés chez le poulet. Seul l'halofuginone a montré une efficacité détectable, en retardant le développement des cryptosporidies dans l'intestin, mais sans action sur les symptômes cliniques et le développement dans l'appareil respiratoire (Lindsay *et al.*, 1987d).

**IV-1-3- Efficacité de divers agents testés de façon spécifique**

Chez les mammifères, les interventions immunologiques donnent des résultats encourageants avec en particulier l'utilisation de sérums hyperimmuns d'origine bovine ou ovine (O'Donoghue, 1995). De même, le rôle protecteur du colostrum de mères infectées semble réel sur les chevreaux (Naciri, 1987).

Les œufs issus de poules immunisées par une injection sous-cutanée d'oocystes de *Cryptosporidium parvum* contiennent de forts taux d'anticorps (IgY). Leur administration à des

souris expérimentalement infectées provoque une chute de la population parasitaire (Cama et Sterling, 1991). Pour l'instant, ces résultats prometteurs restent anecdotiques et non applicables pour la médecine de groupe.

#### **IV-1-4- Efficacité des agents non spécifiques**

En l'absence de traitement spécifique, un traitement symptomatique (réhydratation, anti-inflammatoire, bronchodilatateur,...) ainsi qu'une correction du régime alimentaire (apport minéral et vitaminé) pourront être insaturés. Étant donné la très fréquente association avec d'autres agents pathogènes, une antibiothérapie est conseillée.

### **IV-2- Prophylaxie**

#### **IV-2-1- Prophylaxie médicale**

Comme la chimiothérapie, la chimioprophylaxie s'est avérée peu efficace. L'utilisation d'anticoccidiens dans les élevages aviaires n'empêche pas l'apparition des cryptosporidies. Ainsi, l'halofuginone, qui baisse la colonisation du tube digestif par les cryptosporidies, n'empêche ni l'infection ni l'excrétion d'oocystes (Lindsay *et al.*, 1987d).

Un essai d'immunisation avec des extraits d'oocystes de *Cryptosporidium baileyi* a été tenté. L'injection d'oocystes tués entraîne une production d'anticorps équivalente à celle provoquée par une réelle infection. Les oiseaux vaccinés excrètent deux fois moins d'oocystes dans leurs fèces après une inoculation par voie orale à l'âge de 30 jours, par rapport aux oiseaux non immunisés infectés de la même manière. Par contre, la protection est moins efficace après l'injection d'extraits d'oocystes qu'après une première infection naturelle. En effet, les poulets infectés expérimentalement à 14 jours sont ensuite résistants au challenge à 30 jours, ce qui n'est pas le cas des poulets immunisés (Mosele, 1998).

A l'heure actuelle, la prophylaxie médicale ne présente pas une efficacité suffisante et le principal moyen de lutte contre les cryptosporidioses reste la prophylaxie sanitaire.

#### **IV-2-2- Prophylaxie sanitaire**

Le but de la prophylaxie sanitaire est de lutter contre les diverses causes favorisant la contamination et d'agir sur les facteurs de réceptivité et de sensibilité. Cette lutte passe par des mesures souvent classiques et efficaces pour un grand nombre de maladies. Les conditions d'élevage influent sur la circulation du parasite et peuvent donc favoriser la contamination.

Le respect des règles d'hygiène en élevage (nettoyage régulier des litières, vide sanitaire entre les lots, désinfection des locaux et du matériel à la vapeur d'eau chaude en surpression, respect des densités maximales) permet de limiter la circulation du parasite lorsqu'il est présent dans l'élevage.

La qualité de l'alimentation et l'ambiance générale de l'élevage sont des facteurs qu'il convient de maîtriser.

La diminution du pouvoir infectant des cryptosporidies consiste à détruire les oocystes dans le milieu extérieur. Cette décontamination de l'environnement est rendue difficile par la résistance des oocystes dans le milieu extérieur. La désinfection des locaux et des matériels s'effectuera avec des protocoles reconnus efficaces contre les cryptosporidies :

- Fumigation au formol ou à l'ammoniaque.
- Utilisation de la dessiccation et du pouvoir des UV pour le matériel. Ainsi, un épisode de diarrhée chez des colins de Virginie à été jugulé après désinfection et exposition du matériel au soleil durant 3 jours (Hoerr *et al.*, 1986).

**Partie**

**Expérimentale**

# Matériels et méthodes



### II-1.1.1. Climat de la wilaya

Le climat à Boumerdes est méditerranéen, froid et humide en hiver, chaud et sec en été. La pluviométrie varie entre 500 et 1.300 mm par an, du mois d'octobre au mois de mars (Anonyme, 2007).

Les paramètres climatiques les plus influents sur les élevages sélectionnés dans cette étude sont la température et l'humidité relative car 91% (20/22) de ces élevages se situent dans des régions côtières (Zemmouri, Corso, Cap Djinet).

#### a) Températures enregistrées dans la wilaya

Les amplitudes thermiques annuelles sont en général faibles dans la wilaya. Ceci est dû à la proximité de la mer. Les régions littorales sont connues pour leur climat doux et tempéré. La température annuelle moyenne est de 18°C près de la côte et de 25°C dans les régions internes de la wilaya.

#### b) Humidité relative

Le taux d'humidité relative varie de 60 à 80%. Ce taux est important car le réseau hydraulique de cette wilaya est constitué d'un grand ensemble d'oueds et aussi du fait de la proximité de la mer (Anonyme, 2007).

## II-1.2. Élevages

### II-1.2.1. Espèces étudiées et souches

Les espèces avicoles retenues pour cette étude sont citées dans le tableau 1 :

**Tableau 1** : Espèces étudiées

Espèce	Nom latin	Souches
Poulet	<i>Gallus gallus</i>	ISA 15, Arbor acres
Dinde	<i>Meleagris gallopavo</i>	Big 6, Nicolas 700

### **II-1.2.2. Taille des élevages**

La capacité des bâtiments suivis varie de 2500 à 14000 sujets.

### **II-1.2.3. Type de bâtiments**

59% (13/22) des bâtiments sont des serres agricoles, non conformes, où les conditions d'élevage sont difficiles à gérer. 40,91% (9/22) sont des bâtiments en dur, où un minimum de conditions est réuni.



**Figure 2:** Types de bâtiments d'élevage (Photos personnelles)

Ce choix est fait dans le but de déterminer l'influence du type de bâtiment et des conditions d'élevage sur la prévalence des cryptosporidies (Annexe VII).

### **II-1.3. Période d'étude**

Cette étude s'est déroulée entre octobre 2009 et septembre 2010 et a englobé les quatre saisons afin de déterminer l'influence des paramètres climatiques, l'amplitude de l'humidité et la température (variation saisonnière), sur la cryptosporidiose du poulet et de la dinde.

### **II-1.4. Matériel de laboratoire**

Le matériel utilisé pour la mise en évidence des cryptosporidies est cité en annexe I.

## **II-2. Méthodes**

### **II-2.1. Protocole de l'étude (figure 3)**

**Figure 3 :** Protocole de l'étude

### II-2.1.1. Protocole de prélèvements

Un total de 22 élevages, dont 17 de poulets de chair et 5 de dindes font l'objet d'un suivi régulier, à une fréquence d'une visite par semaine, avec collecte d'informations par la réalisation de fiches d'enregistrement (voir en annexe II).

#### a) Matières fécales

Le prélèvement des échantillons fécaux se fait immédiatement après émission, à partir de la litière, dans des flacons en plastique propres, étiquetés et conservés à + 4°C, dans du bichromate de potassium ( $K_2Cr_2O_7$ ), jusqu'à leur examen parasitologique au laboratoire de Parasitologie Mycologie de l'ENSV-Alger. Environ 101 prélèvements sont réalisés dans ces élevages. Chaque prélèvement est accompagné par une fiche de renseignements (voir en annexe III).

#### b) Raclage de muqueuses

120 sujets (98 poulets et 22 dindes), présentant des signes respiratoires, digestifs ou de l'abatement, sont autopsiés. Dans certains cas, des cadavres frais sont utilisés. Les lésions trouvées sont enregistrées et des raclages sont réalisés sur les muqueuses de différents organes : trachée, proventricule, intestin, bourse de Fabricius, cloaque. Ces derniers sont étalés, séchés à l'air puis fixés au méthanol pendant 5 min.

#### c) Prélèvement d'organes

Après le raclage, les mêmes organes sont prélevés et fixés dans du formol tamponné à 10%, en vue de l'examen histologique au laboratoire d'anatomie pathologique de l'ENSV-Alger.

### II-2.1.2. Techniques utilisées pour la mise en évidence de *Cryptosporidium*

Trois techniques sont utilisées pour la réalisation de ce travail. Il s'agit de la technique de concentration de Ritchie simplifiée par Allen et Ridley, la technique de coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz et l'examen histologique après coloration à l'hémalun-éosine.

Utiliser plusieurs méthodes de diagnostic réduit la marge d'erreur. Ainsi, nous avons plus de possibilités de retrouver les cryptosporidies au niveau des organes prélevés. L'histologie permet de mettre en évidence les différents stades parasitaires attachés à

l'épithélium de l'organe et les différentes lésions associées. Le raclage permet de concentrer un maximum d'oocystes surtout ceux présents au niveau de la lumière de l'organe. Ces deux méthodes différentes sont complémentaires et permettent d'avoir plus de précision.

#### **a) Examen des matières fécales**

Les oocystes présents dans les fèces sont décelés après concentration par la technique de Ritchie simplifiée par Allan et Ridley et par la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz (1981). Cette méthode donne les meilleurs résultats concernant la prévalence de l'infection à l'intérieur des élevages (cas des porteurs asymptomatiques).

#### **a)-1- Technique de concentration de Ritchie simplifiée par Allan et Ridley**

##### **Le choix de la méthode**

Les prélèvements ne concernent pas uniquement les cas pathologiques car nous disposons de selles diarrhéiques où la concentration du *Cryptosporidium* est importante et d'autres non diarrhéiques où les oocystes sont en nombre faible ou absents. Pour cela, nous avons choisi d'utiliser une méthode de concentration pour faciliter la recherche du parasite.

En pratique courante, la méthode de Ritchie simplifiée (éther-formol) est plus facilement utilisable (Gati, 1992). C'est une technique polyvalente réalisée systématiquement, pour chaque prélèvement de matières fécales. Son but est de concentrer un maximum des éléments parasitaires, avec un minimum de résidus, dans un petit volume de matières fécales.

##### **Principe**

C'est une méthode diphasique (physico-chimique) qui met en jeu la balance hydrophile-lipophile du parasite. Elle découle de celle de Telemann (1908) qui dilue les selles dans un mélange égal d'éther et d'acide chlorhydrique (Mosele, 1998).

##### **Mode opératoire (voir en annexe IV)**

- Déposer quelques grammes de selles (3 à 5 g) dans un verre à pied conique.
- Verser dans le verre à pied un volume d'eau formolée à 10 %, 2 à 3 fois supérieur à celui des selles.
- Agiter à l'aide d'un agitateur en verre jusqu'à l'obtention d'une dilution homogène.
- Laisser décanter quelques minutes (1 à 2 minutes), pour éliminer les gros débris fécaux.

- A l'aide d'une pipette Pasteur, aspirer une partie du surnageant et verser dans un tube conique en verre équivalent à 2/3 du volume total à émulsionner.
- Ajouter un volume d'éther correspondant à 1/3 du volume total à émulsionner.
- Boucher le tube avec un bouchon en caoutchouc, tout en prenant soin de laisser un espace vide pour le liquide d'environ 1 cm, pour permettre l'émulsion.
- Peser les tubes pour équilibrer avant centrifugation.
- Centrifuger le tube à 2.500 tours pendant 5 min.

Après centrifugation, le contenu du tube se répartit en 4 couches qui sont, de haut en bas :

- Une couche étherée chargée en graisses.
  - Une couche épaisse sous forme d'anneau, constituée de gros débris.
  - Une couche aqueuse.
  - Un culot dans lequel sont concentrés les éléments parasitaires.
- Jeter énergiquement le surnageant et garder le culot.
  - A l'aide d'une pipette Pasteur, prélever une à deux gouttes du culot de centrifugation, après une légère homogénéisation.
  - Sur deux lames bien dégraissées et numérotées, déposer la goutte à l'une des extrémités de la lame, la mettre en contact avec le bord d'une autre lame ; la goutte diffuse par capillarité. Ensuite l'étaler sur toute la surface de la lame et d'une manière continue, en zigzag, sans revenir au point de départ. On obtient alors un frottis mince avec plusieurs épaisseurs, c'est le cas d'un bon frottis. Laisser sécher à l'air.
  - Fixer au méthanol ou éthanol absolu pendant 5 min et sécher à l'air.

Vu la taille et la transparence des oocystes, il est indispensable de colorer les frottis car un simple examen directe expose à de nombreuses erreurs (difficulté de différencier *Cryptosporidium* des levures).

- Colorer avec la coloration de Ziehl Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz.

**a)-2- Coloration de Ziehl Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz (1981)****Le choix de la méthode**

La comparaison des différentes méthodes de coloration fait apparaître que les meilleures techniques sont celles qui colorent le parasite lui-même plutôt que celles avec lesquelles *Cryptosporidium* apparaît en contraste (technique de Heine), et que les colorations acido-résistantes sont les plus performantes (coloration par l'auramine, technique de Ziehl Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz ou celle modifiée par Garcia) (Gati, 1992).

La coloration à l'auramine nécessite un microscope à fluorescence, contrairement aux autres techniques qui requièrent un microscope optique, disponible dans tous les laboratoires.

Nous optons ainsi pour la coloration de Ziehl Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz où le contraste entre la coloration rouge vif du parasite et le fond bleu permet le repérage aisé, et les caractères cytologiques évidents rendent le diagnostic plus sûr.

**Principe**

La coloration de Ziehl Neelsen permet de caractériser l'acido-alcool-résistance des germes ayant la capacité de retenir la fuchsine après traitement par un alcool ou un acide. Ces derniers apparaissent en rouge malgré l'utilisation du bleu de méthylène (Euzéby, 2002).

Ces propriétés de coloration sont expliquées par la structure de la paroi cellulaire, et notamment sa richesse en acides gras et lipides, ce qui rend difficile la pénétration des agents colorants et décolorants. D'autre part, les acides mycoliques présents sur la paroi des cryptosporidies retiennent la fuchsine (Solatges, 2008).

C'est une coloration de référence, rapide, simple, peu onéreuse et de lecture facile. De plus, les lames peuvent être conservées, utilisées pour la détection des cryptosporidies.

**Mode opératoire (voir en annexe V)**

- Colorer les lames pendant 1 heure dans de la fuchsine phéniquée.
- Rincer à l'eau du robinet.
- Différencier dans une solution d'acide sulfurique à 2% pendant 30 secondes.
- Rincer et contre-colorer avec une solution de vert de Malachite à 5% pendant 5 min.
- Rincer à l'eau de robinet

- Laisser sécher à l'air.
- La lecture se fait au microscope à objectifs x 40 et x 100 (à immersion), en mettant au point le coin supérieur gauche, puis en déplaçant la lame régulièrement d'avant en arrière ou de haut en bas. Cette technique permet de visualiser nettement les oocystes de *Cryptosporidium*, qui sont colorés par cette technique en rouge vif, parfois en rose sur fond vert.

### **b) Examen des raclages**

Après un bon étalage, séchage et fixation dans du méthanol pendant 5 minutes, les lames sont colorées par la coloration de Ziehl Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz (1981) décrite précédemment.

### **c) Examen histologique**

L'histopathologie est utilisée pour confirmer les cas positifs par l'examen des produits de raclage, pour rechercher de nouveaux individus porteurs de *Cryptosporidium* sp. non dépistés et étudier les lésions associées.

La technique histologique a pour but l'obtention de coupes minces et transparentes, de tissus et d'organes observables au microscope.

#### **c)-1- Préparation des coupes histologiques**

- Découpage : découper des tranches fines, en tenant compte de la conformation histologique de l'organe.
- Fixation : mettre les tissus prélevés dans un fixateur (eau formolée à 10%), afin de les protéger de toute hydrolyse due à la libération des enzymes contenues dans les lysosomes cellulaires.



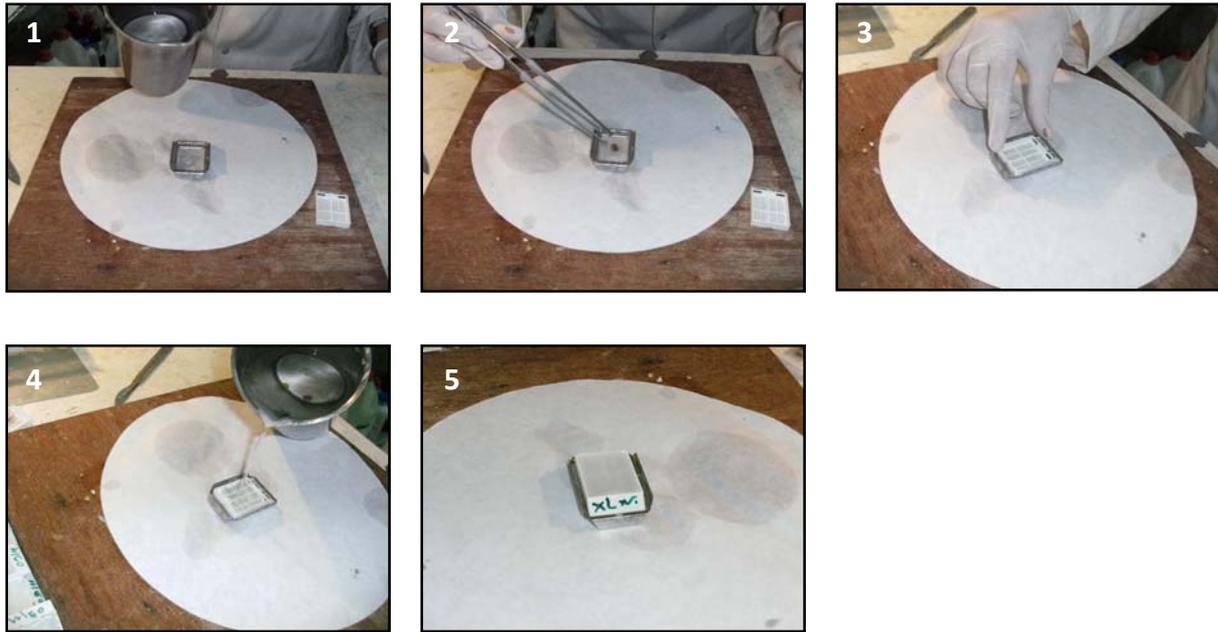
**Figure 4** : Découpage d'organes en tranches peu épaisses et conservation dans l'eau formolée à 10% (photos personnelles)

- Déshydratation avec de l'alcool éthylique à concentration croissante (70°, 90°, 100°), parce que la paraffine n'est pas miscible à l'eau : 1 h pour chaque bain à 70° et 90°, et 1 h 30 pour l'alcool absolu (100°).
- Comme la paraffine n'est pas non plus miscible à l'alcool, celui-ci sera remplacé, avant inclusion, par un liquide intermédiaire miscible à l'alcool et à la paraffine. Le toluène est ainsi utilisé (2 bains / 1 h pour chaque bain).
- Inclusion dans de la paraffine à 56-58° dans une étuve pendant 12 heures.



**Figure 5**: Déshydratation dans trois bains d'alcool à concentrations croissantes et inclusion dans la paraffine à 56-58° pendant 12 heures (photos personnelles)

- Préparer les blocs de paraffine : sur un moule mettre une fine couche de paraffine (1), placer le tissu à analyser (2), mettre au-dessus une histoquinette (3), puis terminer par une couche de paraffine (4) et laisser refroidir (5).



**Figure 6 :** Étapes de préparation des blocs de paraffine (photos personnelles).

- Immerger immédiatement dans de l'eau froide.
- Tailler le bloc de paraffine avec un bistouri.
- Le microtome : placer le bloc dans le porte-objet, placer le rasoir, régler l'épaisseur des coupes, au début, à 8 microns pour enlever l'excès de paraffine, puis à 5 microns pour les coupes définitives. Mettre le cliquet puis couper et mettre directement dans le bain Marie à 41°C.



**Figure 7 :** Découpage des blocs à l'aide d'un microtome (photos personnelles)

- Collage des coupes : graver les lames, choisir une bonne coupe, la placer sur la lame puis placer la lame sur la platine chauffante.
- Mettre à sécher la lame.



**Figure 8** : Préparation de la lame histologique (photos personnelles)

- Colorer à l'hémalun-éosine.

### c)-2- Coloration topographique Hémalun Éosine:

#### Principe

Coloration des noyaux par une laque aluminique (hémalun), et des fonds par un seul colorant acide, l'éosine.

#### Mode opératoire (voir en annexe VI)

- Déparaffinage : dans 2 bains de toluène 5 mn chacun.
- Réhydratation : 3 bains d'alcool à concentrations décroissantes :
  - 1 bain d'alcool absolu pendant 1 mn.
  - 1 bain d'alcool à 95° pendant 1 mn.
  - 1 bain d'alcool à 70° pendant 1 mn.
- Rinçage à l'eau distillée.
- Coloration à l'hémalun (1 mn).
- Rinçage à l'eau courante.

- Coloration à l'éosine (5 mn).
- Rinçage à l'eau courante.
- Déshydratation : 3 bains d'alcool à différentes concentrations croissantes :
  - 1 bain d'alcool à 70° pendant 1 mn.
  - 1 bain d'alcool à 95° pendant 1 mn.
  - 1 bain d'alcool absolu pendant 1 mn.
- Éclaircissement : 2 bains de toluène (5 min/bain).
- Montage : monter sous lamelle à l'aide de résine.
- **Lecture au microscope photonique**

Les différents stades de développement des cryptosporidies présentent comme des granules ovoïdes de 2 à 5  $\mu\text{m}$  de diamètre, en surface des cellules épithéliales où elles semblent attachées à la bordure en brosse.

### II-2.1.3. Analyse statistique

Toutes les données sont saisies dans une base informatique classique, Excel 2007, puis analysées statistiquement par le test  $\chi^2$  de d'indépendance. Nous recherchons systématiquement l'existence de liens entre le taux d'infection par *Cryptosporidium* et les différents paramètres retenus sus-cités et aussi entre les résultats obtenus par les différentes méthodes.

L'intervalle de confiance est calculé pour chaque résultat trouvé afin de donner un certain degré de confiance aux taux de prévalences estimés.

Les représentations graphiques ont pour but d'apprécier la qualité de la relation entre le taux d'infection par *Cryptosporidium sp.* et les différentes variables étudiées.

# Résultats et discussion

### III- Résultats et discussion

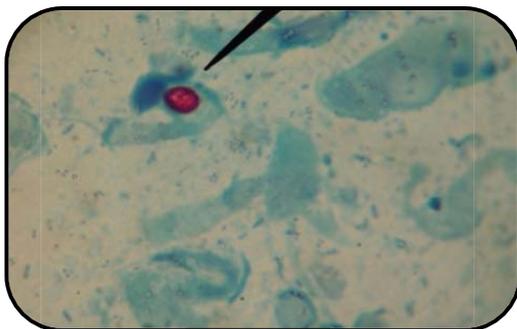
Ces résultats proviennent d'analyses différentes : examens coprologiques, de raclages et histologiques. Le test  $\chi^2$  d'indépendance montre qu'il n'y a pas de différence significative entre les résultats obtenus par l'examen histologique et l'examen de raclage. Nous présentons donc les moyennes des résultats obtenus par ces deux méthodes. L'examen coprologique donne plus de précision pour le calcul des variations de la prévalence de *Cryptosporidium* sp. d'un élevage à un autre.

#### III-1- Observation au microscope optique

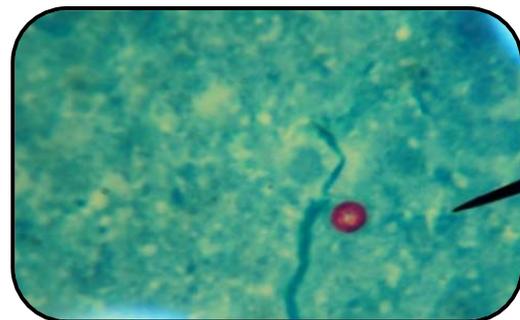
##### III-1-1- Examen des matières fécales et des raclages

Les oocystes de *Cryptosporidium* sont identifiés comme des sphères de forme ovoïde, colorés en rose lumineux sur fond vert pâle (figure 9). La charge d'oocystes est moyenne, approximativement 6 oocystes par glissière, car les prélèvements sont réalisés à partir de la litière (mélange de fientes d'oiseaux sains et celles d'oiseaux malades).

Pour les examens de produit de raclage, le degré d'infestation est important pour les lames positives car le raclage permet le détachement du parasite de la muqueuse et ainsi une meilleure charge parasitaire. Les cryptosporidies apparaissent rondes à ovoïdes, rouge vif sur fond vert. Leur cytoplasme est granuleux, avec un centre souvent plus clair (figure 10). Tous les autres éléments sont colorés en vert.



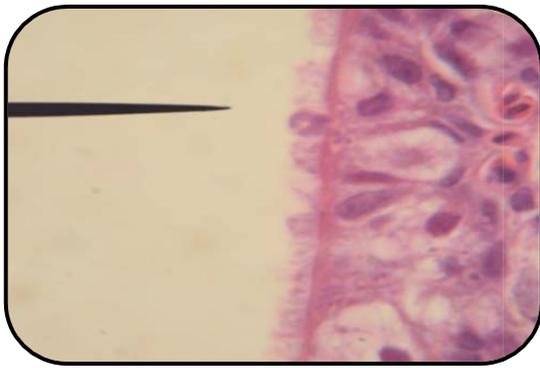
**Figure 9** : Oocyste de *Cryptosporidium* sp., coloration de Ziehl Neelsen modifiée. Examen de matières fécales de dinde, x 1000 (photo personnelle)



**Figure 10** : Oocyste de *Cryptosporidium* sp., coloration de Ziehl Neelsen modifiée. Examen de raclage bourse de Fabricius chez la poule, x 1000 (photo personnelle)

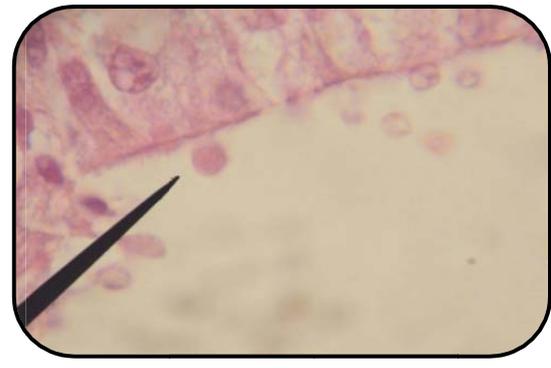
### III-1-2- Examen histologique

Les cryptosporidies apparaissent comme des éléments ovoïdes, d'environ 2 à 4 microns, recouvrant abondamment les épithéliums des organes prélevés (figures 11 et 12), surtout au niveau de la bourse de Fabricius qui représente l'organe le plus atteint.



X 1000

**Figure 11 :** Attachement de cryptosporidies à la cellule épithéliale trachéale (photo personnelle)



X 1000

**Figure 12 :** Attachement de cryptosporidies à la cellule épithéliale bursale (photo personnelle)

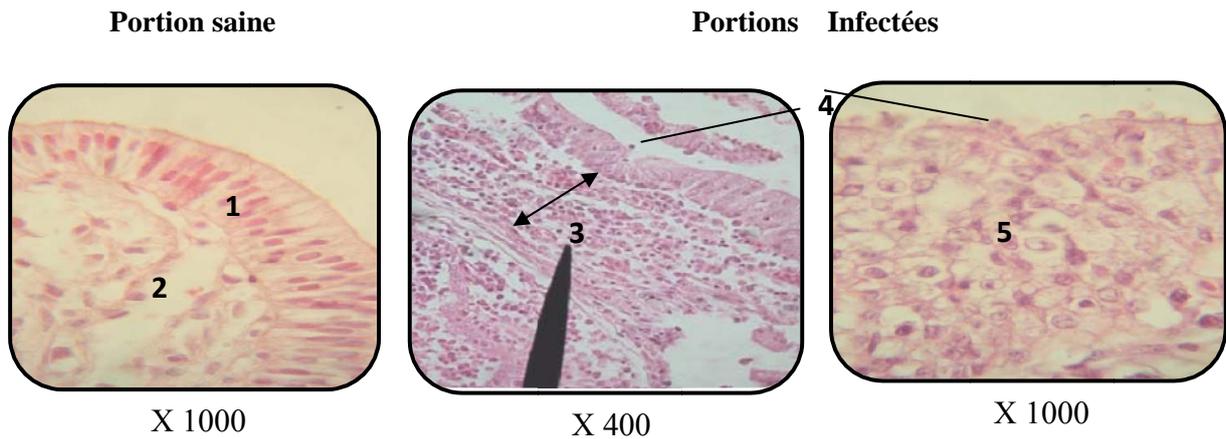
#### III-1-2-1- Principales lésions histologiques rencontrées

##### a) Bourse de Fabricius

Les principales lésions histologiques observées dans la bourse de Fabricius (figure 13), sont principalement des lésions épithéliales :

- Les cryptosporidies recouvrent abondamment l'épithélium bursal.
- Le chorion sous-jacent est dans la majorité des cas infiltré par des cellules inflammatoires.
- L'hyperplasie épithéliale.

Ces résultats concordent bien avec ceux rapportés par Fletcher *et al.* (1975), Kichou *et al.* (1996) et Rhee *et al.* (1997) qui rapportent que la distribution du parasite est accompagnée par une infiltration de l'épithélium et du chorion sous-jacent par des cellules inflammatoires de type lymphocytaire. Ces modifications épithéliales sont considérées comme une réaction tissulaire à l'invasion parasitaire par *Cryptosporidium* sp. (Goodwin *et al.*, 1990). Ceci laisse suggérer l'effet immunosuppressif du parasite (Rhee *et al.*, 1997).



**Figure 13** : Comparaison entre une muqueuse bursale saine et d'autres infectées par *Cryptosporidium* sp. Coloration hémalun-éosine (photos personnelles).

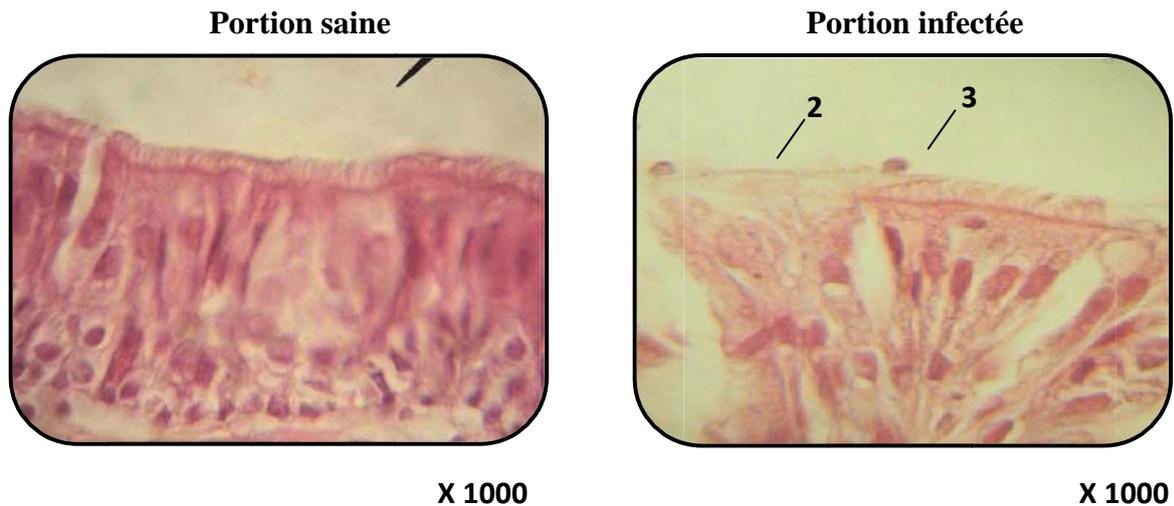
1. Épithélium pseudo-stratifié.
2. *Lamina propria*.
3. Infiltration de la *lamina propria* par des cellules inflammatoires.
4. *Cryptosporidium* sp. attaché à la surface de l'épithélium bursal.
5. Hyperplasie épithéliale.

#### b) Trachée

Les modifications observées au niveau de la trachée sont l'hyperplasie et la disparition des cils de l'épithélium de revêtement. Le chorion sous-jacent est infiltré par des lymphocytes et des plasmocytes (figure 14).

Ces lésions microscopiques sont proches de celles habituellement décrites (Itakura *et al.*, 1984 ; Goodwin *et al.*, 1996) :

- ✚ Hypertrophie et hyperplasie épithéliales,
- ✚ Déciliation,
- ✚ Infiltration de la *lamina propria* par des macrophages, des hétérophiles, des lymphocytes et des cellules plasmiques.



**Figure 14 :** Comparaison entre une muqueuse trachéale saine et infectée par *Cryptosporidium* sp. Coloration H-éosine (photos personnelles).

1. Épithélium pseudo-stratifié de la trachée.
2. Disparition des cils.
3. *Cryptosporidium* sp. attaché à la surface de l'épithélium de la trachée.

### c) Intestin

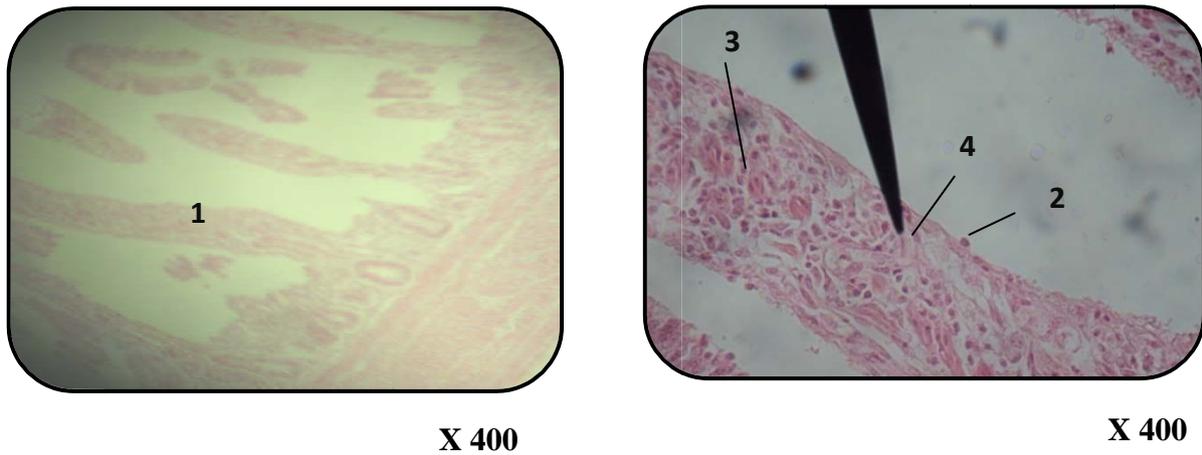
Les prélèvements concernent toutes les parties du tube digestif, surtout la partie terminale (colon), afin de voir un maximum de lésions microscopiques.

Les lésions les plus couramment rencontrées sont (figure 15) :

- ✚ Destruction des microvillosités,
- ✚ Atrophie et fusion des villosités,
- ✚ Infiltration inflammatoire et hyperhémie au niveau de la *lamina propria*.

Ces lésions sont les mêmes que celle décrites par plusieurs auteurs (Goodwin et Brown, 1988 ; Goodwin, 1989).

Kichou *et al.* (1996) ne trouvent aucune lésion au niveau de l'intestin. Ils expliquent leurs résultats par le fait que leurs prélèvements ne concernent que l'iléon, portion qui est rapportée être le site préférentiel de *Cryptosporidium* sp. au niveau du tube digestif (Chermette *et al.*, 1989).

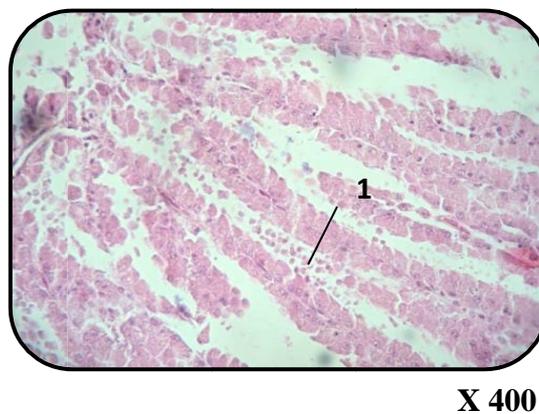


1. Atrophie, voire destruction, des villosités jéjunales.
2. Attachement de *Cryptosporidium* sp. à la surface des villosités.
3. Intrusion lymphocytaire.
4. Hyperhémie (présence d'hématies).

**Figure 15 :** Lésions au niveau du jéjunum de poulet âgé d'un mois, infecté par *Cryptosporidium* sp. Coloration hémalun éosine (photos personnelles).

#### d) Proventricule

La seule espèce parasitaire retrouvée au niveau du proventricule est *Cryptosporidium galli* (Ryan, 2003). Les lésions sont la présence de *Cryptosporidium* spp. (figure 16) et l'infiltration du chorion sous-jacent par des cellules inflammatoires.



1. *Cryptosporidium* spp dans la lumière du proventricule.

**Figure 16 :** Présence de *Cryptosporidium* spp. dans la lumière d'un proventricule de poulet âgé de 3 semaines. Coloration hémalun éosine (photo personnelle).

### **III-2- Prévalence de l'infection à *Cryptosporidium* sp. chez le poulet**

#### **III-2-1- Prévalence globale**

Sur 98 poulets examinés, 54 poulets (55%) [45%, 65%] sont positifs à *Cryptosporidium* sp. Cela montre l'importance de la présence des cryptosporidies dans ces élevages, dû au non respect des normes d'élevage et au climat de la région centre de l'Algérie, favorable à la survie du parasite (chaleur et humidité relative). Cette prévalence est plus élevée que celle rapportée chez le poulet de chair en Corée par Rhee *et al.* en 1991 (15%), aux États-Unis en 1988 par Goodwin et Brown (6,4%) et Ley *et al.* (27,6%), au Maroc par Kichou *et al.* en 1996 (24%) et en Italie par Floretti *et al.* en 1991 (26.7%).

Nos résultats sont comparables à ceux rapportés chez le poulet de chair aux USA par Goodwin *et al.* (1996), où le parasite est retrouvé dans 41% des lots examinés, avec un taux de parasitisme de 10 à 60%, et en Russie par Pavlasek *et al.* (1989), avec un taux d'infection compris entre 38 et 100%.

100% des élevages enquêtés sont infectés par *Cryptosporidium* sp.

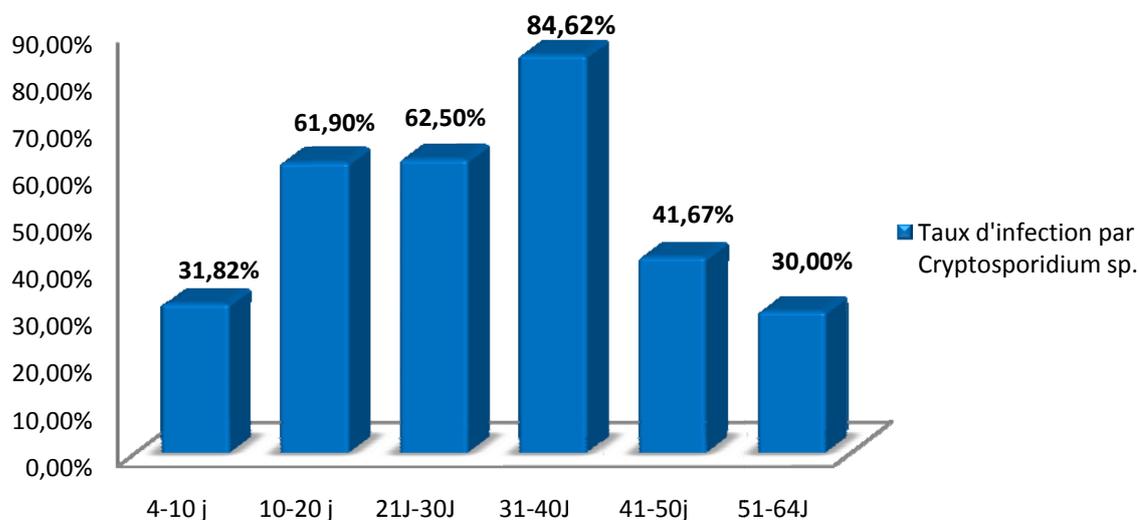
La prévalence de l'infection cryptosporidienne à l'intérieur des élevages varie entre 50% [40 - 60] et 80% [72 - 88], avec 10 élevages qui présentent une fréquence de 80%. Cette prévalence élevée témoigne d'une forte contamination entre les individus du même élevage et peut être expliquée par les conditions hygiéniques des élevages. En effet, la plupart des sujets infectés proviennent d'élevages où l'hygiène est déficiente. Cette susceptibilité à l'infection pourrait s'expliquer également par une diminution du statut immunitaire des animaux de ces élevages. Des cas de cryptosporidiose sont en effet observés chez des poulets immunodéprimés (Naciri *et al.*, 1989).

#### **III-2-2- Prévalence absolue**

Plusieurs paramètres (âge, souche, conditions d'élevage,...) sont étudiés afin de déterminer les facteurs de variation de l'infection cryptosporidienne.

##### **III-2-2-1- Variation de la prévalence selon l'âge**

Les résultats des fréquences de l'infestation par *Cryptosporidium* selon l'âge des poulets sont indiqués dans la figure 17 :



**Figure 17 :** Fréquence de l'infection par *Cryptosporidium* sp. selon l'âge.

Les résultats illustrés par la figure 17 montrent une forte progression de la prévalence jusqu'à l'âge de 40 jours, puis sa décroissance jusqu'à l'âge de 64 jours, avec des taux importants entre 10 et 50 jours d'âge.

Nos résultats sont proches de ceux rapportés par Goodwin et Brown (1988), qui trouvent la maladie chez les animaux âgés de 17 à 52 jours. En effet, l'infection à *Cryptosporidium* sp. survient chez les jeunes poulets âgés de moins de 11 semaines (Fayer et Ungar, 1986 ; De Graaf *et al.*, 1999) et la maladie n'a jamais été rapportée chez les animaux adultes (Itakura *et al.*, 1984 ; Goodwin et Brown, 1986), mais expérimentalement des poulets de 6 mois peuvent être infectés (Goodwin, 1989).

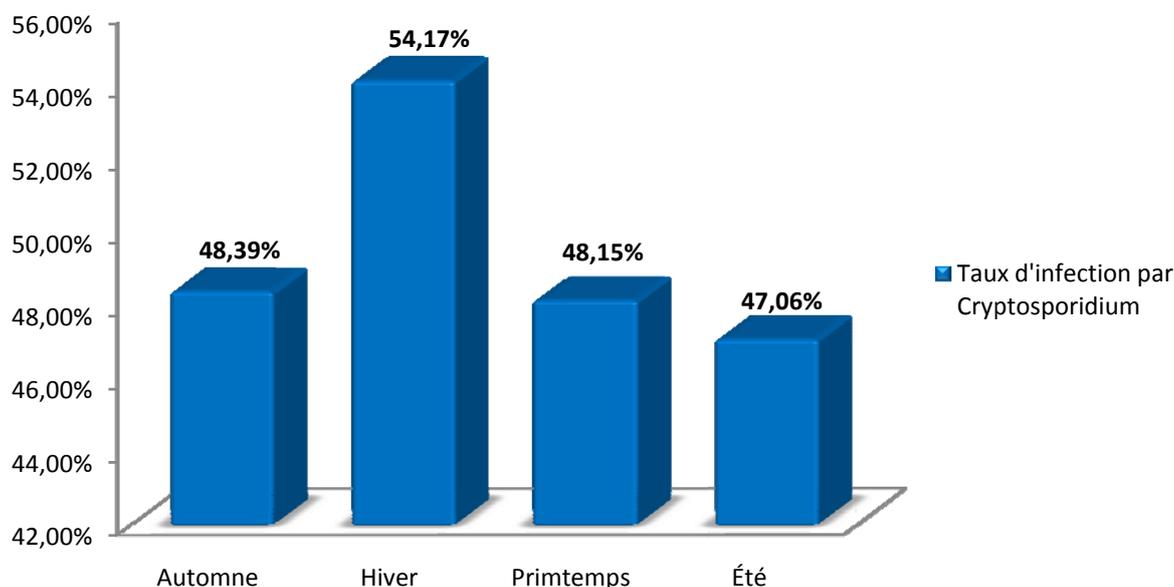
Bien que, chez le poulet, la maladie ne soit pas néonatale et le parasite ne soit pas retrouvé chez les animaux âgés de moins de trois semaines (Kichou *et al.*, 1996), les taux retrouvés dans notre étude sont de 31,82% [13,86 - 54,87%]. Ce rapport peut être expliqué par de mauvaises conditions d'hygiène au couvoir car un grand pourcentage de poussins est atteint d'omphalite. La mauvaise désinfection et le non respect du délai de vide sanitaire dans les élevages est une autre cause possible. Ces facteurs ont pu favoriser l'infestation par leur action débilante sur le système immunitaire, les cryptosporidies trouvant un terrain nettement favorable chez les immunodéprimés. Ce taux reste significativement inférieur à ceux enregistrés entre 10 et 50 jours d'âge du fait de la résistance des animaux qui

probablement possèdent des taux d'anticorps contre *Cryptosporidium* suffisants pour contrecarrer l'infection à cet âge.

Le plus faible taux, 30% [6,67 - 65,25], est signalé entre 51 et 64 jours d'âge et cela est peut être dû à l'acquisition d'une immunité contre *Cryptosporidium* sp. Certains auteurs confirment qu'une première infection permet l'acquisition d'une résistance ultérieure à la maladie (Current *et al.*, 1986 ; Sreter *et al.*, 1995). Le facteur "âge" et le facteur "immunité" sont liés et interviennent de façon concomitante.

### III-2-2- 2- Variation de la prévalence selon la saison

Nos prélèvements se sont étalés sur une période d'une année et ont englobé les 4 saisons afin de distinguer l'influence des variations climatiques sur l'infection à *Cryptosporidium* sp. Les taux de prévalence retrouvés sont présentés dans la figure 18 :



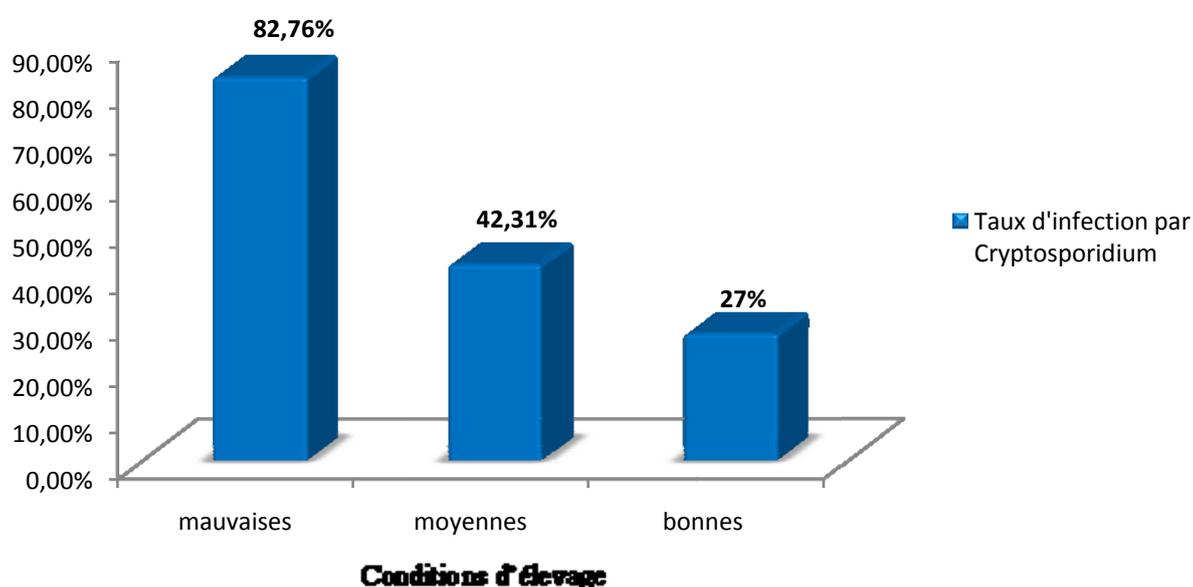
**Figure 18** : Fréquence de l'infection par *Cryptosporidium* selon la saison

Les résultats illustrés par la figure 18 montrent un taux de positivité de 54,17% [32,82 - 74,45%] pour les prélèvements effectués en hiver. Des taux identiques sont relevés en automne, au printemps et en été (47 à 48%).

L'analyse statistique des résultats, par l'utilisation du test d'indépendance  $\chi^2$ , confirme l'absence de différence significative entre les quatre taux d'infection. Par conséquent, il n'y a pas de variation saisonnière de la cryptosporidiose et ceci s'explique par le climat des régions côtières, qui est adouci par la présence de la mer (température et humidité relative adéquates), et par conséquent permet une plus grande résistance du parasite dans le milieu extérieur.

Nos résultats sont différents de ceux rapportés par Goodwin et Brown (1988) qui notent une baisse de l'infection cryptosporidienne durant l'hiver par rapport aux autres saisons, ainsi qu'une différence significative dans la prévalence de la cryptosporidiose entre le nord et le sud de la Géorgie (Goodwin et Brown, 1989a). Cependant, ces auteurs n'expliquent pas la raison de ces différences, et le manque de données empêche de conclure sur l'influence du climat et de la localisation géographique sur l'infection cryptosporidienne.

### III-2-2-3-Variation de la prévalence en fonction des conditions d'élevage



**Figure 19 :** Fréquence de l'infection par *Cryptosporidium* en fonction des conditions d'élevage

Les conditions d'élevage ont une influence nette sur l'état de résistance et l'apparition de la majorité des maladies. Cependant, il est impossible d'avoir toutes les conditions réunies, à savoir un environnement adéquat, une bonne ambiance générale et une bonne alimentation. Le respect de certaines conditions majeures peut cependant diminuer ou limiter l'extension de la maladie et la pérennité du parasite dans un élevage.

Au cours de notre enquête, très peu d'élevages respectent les normes et il est difficile de les classer selon ce paramètre.

Un classement arbitraire rassemble les 17 élevages en 3 groupes :

- Ceux où un maximum de conditions est réuni (6 élevages) : bonnes conditions d'élevage.
- Ceux où quelques conditions sont respectées (7 élevages) : conditions d'élevage moyennes.
- Ceux où les conditions ne sont pas respectées (4 élevages) : mauvaises conditions d'élevage.



*Mauvaises*



*Moyennes*



*Bonnes*

**Figure 20** : Conditions d'élevage des bâtiments étudiés  
(photos personnelles).

La figure 19 montre un taux significativement élevé (82,76%) pour les élevages où les conditions sont mauvaises, comparativement aux taux obtenus dans les élevages où les conditions sont moyennes (42,31%) ou bonnes (27,27%).

Les élevages classés sous "mauvaises conditions" présentent surtout un défaut d'hygiène, ce qui laisse supposer que ce paramètre à lui seul peut être le facteur favorisant l'apparition de l'infection par *Cryptosporidium* sp. Une hygiène défectueuse, en plus de favoriser la contamination, fragilise les animaux par l'installation d'affections bactériennes ou virales et compromet leur état immunitaire. Le rôle de la litière n'est pas à négliger. Euzeby (2002) constate que les cryptosporidies gardent leur pouvoir infectant durant 4 à 12 mois, voire 18 mois (Chermette et Boufassa-Ouzrout, 1988) sur les sols humides.

Toutes les litières sont faites de paille, qui crée un milieu humide et protecteur pour les oocystes. Ainsi, les élevages marocains infectés par des cryptosporidies montrent tous une

hygiène défectueuse (Kichou *et al.*, 1996). De même, l'augmentation du nombre d'élevages infectés en Géorgie, de 1% entre 1974 et 1984 à 6% entre 1984 et 1988, serait, d'après les auteurs, due à l'extension de la pratique de la litière permanente en élevage avicole (Goodwin *et al.*, 1990).

En dehors de ce facteur, d'autres paramètres interviennent dans l'installation de la maladie. Durant notre enquête, nous avons remarqué le mauvais stockage de l'aliment (sacs contre le mur, exposés à l'humidité) (figure 21) et l'irrégularité dans la distribution de ce dernier (une quantité insuffisante et pas à heure précise), ce qui engendre un stress influant directement sur l'état immunitaire des animaux.

Ainsi, il est démontré que des carences prolongées en vitamine E, sélénium et acides aminés essentiels engendrent une immunodépression sévère (Silim et Rekik, 1992).

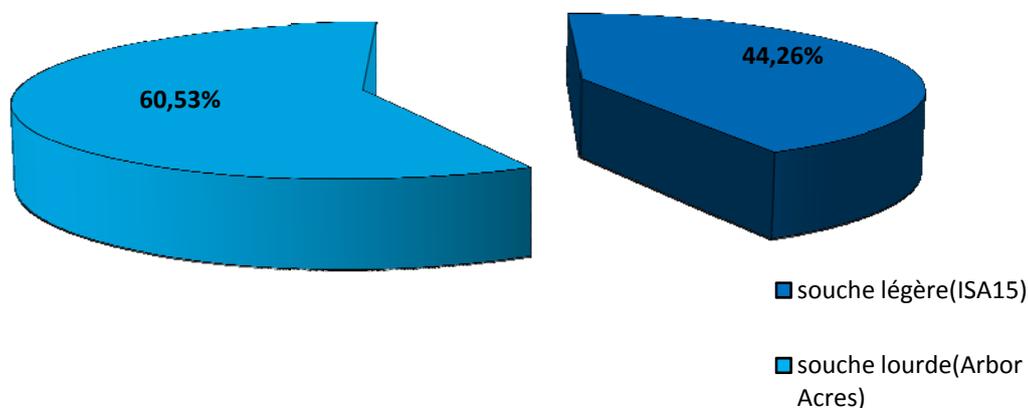


**Figure 21** : Stockage de l'aliment dans de mauvaises conditions

La plupart des bâtiments enquêtés sont non conformes (serres agricoles). La température, l'hygrométrie et l'intensité de la lumière sont instables et difficiles à contrôler, d'où l'apparition d'un état de stress particulièrement défavorable. Ainsi, le froid réduit l'immunité à médiation cellulaire et le transfert de l'immunité passive (Silim et Rekik, 1992).

#### **III-2-2- 4- Variation de la prévalence en fonction de la souche (potentiel génétique)**

Afin de démontrer l'effet de la sélection génétique sur la prévalence de l'infection à *Cryptosporidium* sp., nous avons choisi deux souches de poulets de chair : une souche lourde (Arbor Acres) et une autre légère (ISA 15). Nos résultats sont illustrés par la figure 22 :



**Figure 22 :** Fréquence de l'infection par *Cryptosporidium* selon la souche (potentiel génétique)

Les programmes de sélection pour les oiseaux d'élevage ont pour objectif de maximiser la productivité en accélérant la croissance tout en réduisant la consommation d'aliment. Bien que la santé des oiseaux soit un caractère important dans le programme de sélection, la croissance reste le caractère cible, suivi de près par d'autres caractéristiques importantes économiquement, telles l'efficacité alimentaire.

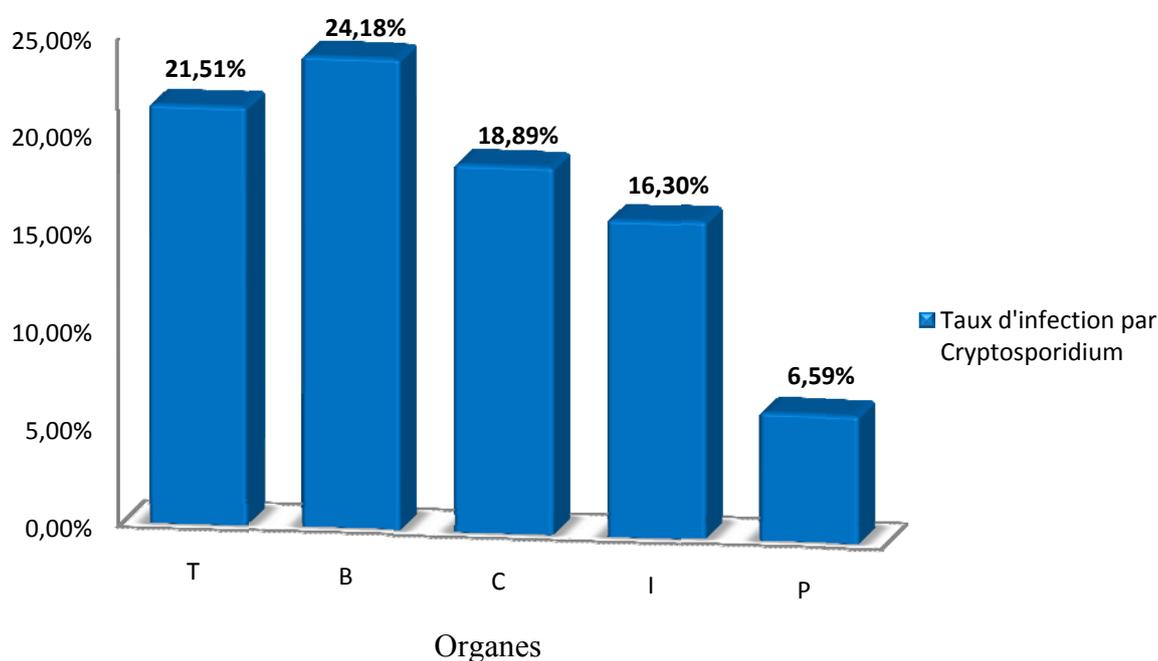
La croissance rapide et l'augmentation du poids corporel donnent lieu à des problèmes touchant le squelette et à l'apparition de maladies métaboliques (ascite). De plus en plus, les poulets de chair à croissance rapide (souche lourde) souffrent d'un système immunitaire affaibli, ce qui les rend sensibles aux agents pathogènes (Qureshi *et al.*, 1994 ; Rauw *et al.*, 1998 ). La confirmation de ces hypothèses est venue suite à la comparaison de deux souches, l'une lourde (Arbor Acres), et l'autre légère (ISA 15).

Durant notre enquête, 98 poulets sont examinés dont 65 sont des poulets de souche légère et 33 de souche lourde. Nos résultats (figure 22) montrent une différence non significative entre les taux d'infection par *Cryptosporidium* pour les deux souches. En effet, elle est de 60,53% (23 poulets infectés / 38) [44 - 76%] pour les poulets de souche lourde et de 44,26% (27 poulets infectés / 61) [31 - 57%] pour ceux de souche légère. Les effets sexe et souche sur l'apparition de la cryptosporidiose n'ont pas été étudiés.

Ce résultat est logique étant donné la répartition mondiale de *Cryptosporidium*. Néanmoins, il existe une différence de prévalence de la cryptosporidiose d'un pays par rapport à l'autre et qui serait liée à des facteurs épidémiologiques autres (âge, niveau d'hygiène, type d'élevage) que la souche proprement dite.

### III-2-2-5- Variation de la prévalence en fonction des localisations de *Cryptosporidium* sp.

De par leur faible spécificité d'organe, les cryptosporidies peuvent se développer dans un bon nombre des sites où elles ont pu parvenir (figure 23).



T : trachée ; B : bourse de Fabricius C : cloaque I : intestin (colon) P : Proventricule

**Figure 23** : Fréquence des localisations de *Cryptosporidium*

D'après la figure 23, la bourse de Fabricius représente l'organe le plus infecté par *Cryptosporidium* sp., soit une fréquence de 24,2% [15 - 33%], suivi par la trachée avec 21,5% [13%- 29%], le cloaque avec 18,9% [10 - 26%] et l'intestin avec 16,3% [8 - 24%]. Le proventricule quant à lui ne présente que 6,6% [1 - 11%] de l'ensemble des cas examinés. Chez l'oiseau, le développement de *Cryptosporidium baileyi* s'accompagne pratiquement toujours d'une colonisation de la bourse de Fabricius (Mosele, 1998). De même, quelle que soit la voie d'inoculation, on retrouve *Cryptosporidium baileyi* dans le cloaque et la bourse de Fabricius, dû à une ingestion des sécrétions respiratoires et conjonctivales (Lindsay et

Blagburn, 1986). Ceci peut expliquer l'importance des taux enregistrés au niveau de ces deux organes : bourse de Fabricius (24,2%) et cloaque (18,9%). Certains auteurs ne retrouvent les cryptosporidies que dans la bourse de Fabricius (Fletcher *et al.*, 1975 ; Kichou *et al.*, 1990).

Itakura *et al.* (1984) rapportent que les tissus les plus souvent atteints par *Cryptosporidium* sp. sont la bourse de Fabricius (85%), le tractus respiratoire (41%) et l'intestin (11%). Papadopoulou *et al.* (1988) trouvé 52,9% des animaux porteurs de cryptosporidies présentant des symptômes respiratoires, 29,4% de la diarrhée et 17,6% la combinaison des deux. Nos résultats concordent bien avec ceux rapportés par Itakura *et al.* (1984) et par Papadopoulou *et al.* (1988) qui considèrent la bourse de Fabricius et le tractus respiratoire comme les organes de choix pour le développement de ce parasite. Chez les oiseaux, la voie respiratoire revêt une grande importance, la cryptosporidiose du poulet se manifestant le plus souvent sous une forme respiratoire (Current *et al.*, 1986 ; Fernandez *et al.*, 1990 ; Goodwin *et al.*, 1996).

Kichou *et al.* (1996) observent des localisations fréquentes dans la bourse de Fabricius (24%), l'intestin (15%) et la trachée (2%). Nos résultats concordent avec ceux rapportés par ces auteurs en ce qui concerne la bourse de Fabricius et l'intestin, mais en sont différents pour les autres localisations, l'appareil respiratoire étant le moins affecté dans leur étude.

- **Association de plusieurs localisations**

**Tableau 5** : Fréquence de l'association de plusieurs localisations de *Cryptosporidium* sp.

Localisation	B+T	B+I	B+P	B+C	T+I	T+C	T+P	C+P	B+C+I	T+I+C	C+T+P
Cas positifs	10,17%	6,78%	5,08%	8,47%	3%	8,47%	2%	2%	3%	2%	2%

L'étude de la relation entre l'infection par *Cryptosporidium* sp. de la bourse de Fabricius, de la trachée, de l'intestin, du cloaque et du proventricule (tableau 5) montre que, parmi les 59 individus porteurs de *Cryptosporidium* :

- 6 poulets (10,17%) [2 - 18%] présentent à la fois une infection de la bourse de Fabricius et de la trachée, fréquence la plus élevée, et 8,47% à la fois une infection du cloaque et de la trachée. Dans ces deux cas, les organes sont anatomiquement éloignés. Le passage par voie hématogène est impossible et l'injection intraveineuse du parasite n'a permis son développement dans aucun organe (Lindsay *et al.*, 1987c). Lors d'infections expérimentales,

l'inoculation par voie orale s'accompagne par la colonisation de la bourse de Fabricius, du cloaque (Blagburn *et al.*, 1987), et tardivement de l'appareil respiratoire (Lindsay *et al.*, 1986a, 1987a) . Certains auteurs expliquent ce développement toujours tardif par une contamination aérienne à partir des fèces (Lindsay et Blagburn, 1986). Lors d'inoculation par voie trachéale, le parasite colonise l'appareil respiratoire (Lindsay *et al.*, 1986a, 1987a), le cloaque et la bourse de Fabricius (Blagburn *et al.*, 1987). Ceci est vraisemblablement dû à une ingestion des sécrétions respiratoires ou conjonctivales (Lindsay et Blagburn, 1986)

- 5 poulets (8,47%) [1 - 15%] présentent à la fois une infection de la bourse de Fabricius et du cloaque. La situation anatomique de la bourse de Fabricius, près du cloaque, pourrait la prédisposer à l'infection. En effet, la bourse de Fabricius est située dans la dernière partie du cloaque des oiseaux, le proctodeum. Elle est tapissée par la muqueuse intestinale qui forme de nombreux plis.

- Un taux important est retrouvé pour l'association de l'infection de la bourse de Fabricius et de l'intestin (6,78%) [0 - 12%]. Ceci pourrait être lié à la relation anatomique étroite entre l'intestin et la bourse de Fabricius. Une fois le cloaque infecté, l'extension du parasite par contiguïté (passage d'une cellule à une autre) aux autres parties de l'intestin est possible.

Il y a une relation étroite entre la colonisation de la bourse de Fabricius et celle des tractus respiratoire et digestif. Ces résultats se rapprochent de ceux de Kichou *et al.* (1996) et sont différents de ceux rapportés par Goodwin *et al.* (1990) qui confirment l'absence de relation entre l'infection de la bourse de Fabricius et celle des tractus respiratoire et digestif.

Le taux relativement faible d'infection trachée / intestin (3,00%) [0 - 7%] peut être expliqué par le fait que la contamination du tube digestif se fait par ingestion des sécrétions respiratoires ou conjonctivales (Lindsay et Blagburn, 1986), alors le parasite met du temps pour contaminer l'intestin. Nous avons effectué un prélèvement précoce, avant la progression des cryptosporidies et la colonisation de l'intestin.

Pour l'association de l'infection du proventricule avec les autres organes, les taux enregistrés sont relativement faibles (2%), ce qui est dû aux particularités du cycle évolutif de *Cryptosporidium galli* qui ne se développe qu'au niveau du proventricule.

L'infection cryptosporidienne peut se généraliser à plusieurs organes mais les taux restent faibles en raison de la spécificité d'organe et de la voie d'inoculation des espèces aviaires de *Cryptosporidium*. Cependant, les infections expérimentales, réalisées avec des isolats de *Cryptosporidium baileyi* par voie orale, conduisent à un développement du parasite dans l'intestin terminal et la bourse de Fabricius (Current *et al.*, 1986 ; Blagburn *et al.*, 1987).

### III-3- Prévalence de la cryptosporidiose chez la dinde

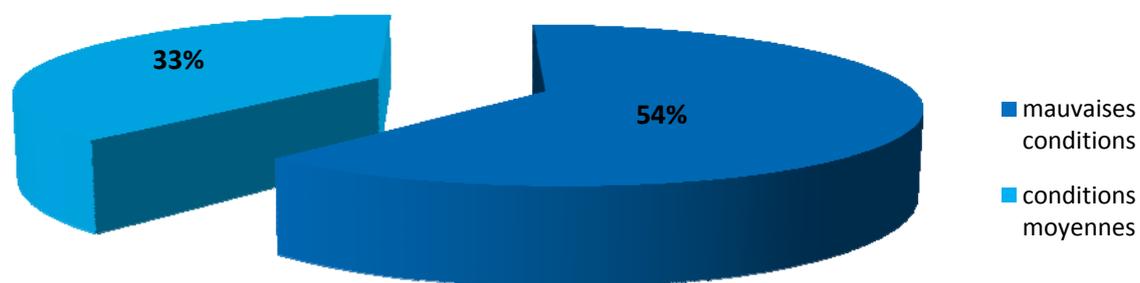
#### III-3-1- Prévalence globale

Sur 22 sujets examinés, 9 dindons (41%) [20,71 - 63,65%] sont trouvés positifs à *Cryptosporidium* sp. Ce taux montre l'importance de la présence des cryptosporidies dans les élevages étudiés. Cette prévalence élevée pourrait s'expliquer par les conditions climatiques adéquates pour la conservation du parasite (chaleur et humidité) et d'autre part les mauvaises conditions d'élevage (bâtiments non conformes, litière humide, surdensité, mauvaise désinfection, et non respect du délai de vide sanitaire).

Cette prévalence est comparable à celle retrouvée aux États-Unis par Woodmansee *et al.* (1988), qui est de 33,8%, et élevée par rapport à celle retrouvée en Roumanie par Radu et Dan en 1985, qui est de 14,8%. Ces taux montrent la large distribution des cryptosporidies.

#### III-3-2- Prévalence absolue

##### III-3-2-1- Variation en fonction des conditions d'élevage



**Figure 24** : Fréquence de l'infection par *Cryptosporidium* selon les conditions d'élevage

Comme pour toutes les espèces, les conditions d'élevage sont des facteurs favorisant dans l'apparition de la plupart des maladies. Pour les six élevages de dindes étudiés, les bâtiments sont non conformes, par conséquent il est difficile de les classer selon ce paramètre.

Les 6 élevages, comme précédemment pour les poulets, sont classés en 2 groupes :

- Ceux où les normes sont plus ou moins respectées (4 élevages) : conditions d'élevage moyennes.
- Ceux où les normes ne sont pas respectées (1 élevage) : mauvaises conditions d'élevage.



**Figure 25** : Conditions d'élevage des bâtiments étudiés

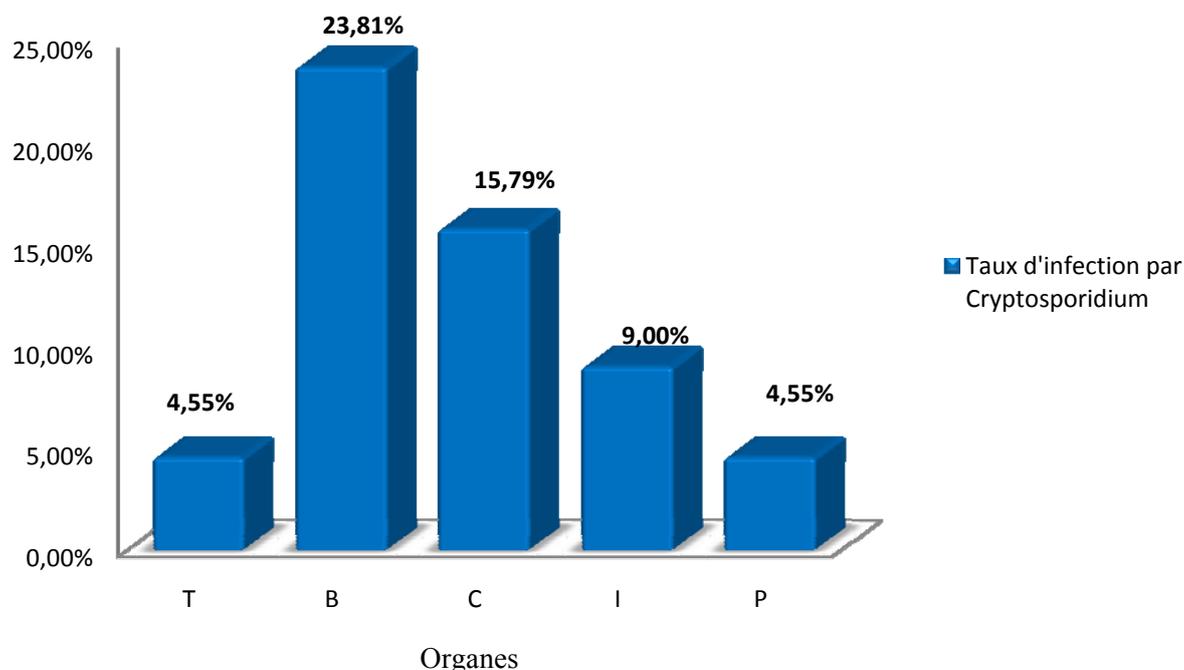
Le test de Khi-deux montre que la distribution des prélèvements pour les deux types de conditions d'élevage montre une fluctuation significative ( $p < 0,05$ ). Le taux d'infection par *Cryptosporidium* dans les élevages à conditions défectueuses est significativement élevé (54%) [25,13 - 80,78%] par rapport à ceux où les conditions sont moyennes (33%) [7,49 - 70,07%].

Une hygiène défectueuse, en plus de favoriser la contamination, fragilise les animaux par l'installation d'affections bactériennes ou virales et compromet leur état immunitaire. Une litière humide préserve le parasite et assure sa pérennité et c'est surtout l'utilisation de la paille qui garde cette humidité favorable à la survie du parasite. Ainsi, l'augmentation du nombre d'élevages infectés en Géorgie, de 1974 à 1988, serait, d'après les auteurs, due à l'extension de la pratique de la litière accumulée en élevage avicole (Goodwin *et al.*, 1990).

En plus de l'état d'hygiène, il est noté une surdensité dans les bâtiments, qui favorise les contacts entre les animaux, d'où une meilleure propagation du parasite. Un stockage de l'aliment dans mauvaises conditions et une température élevée sont enregistrés dans ces élevages, ce qui favorise l'installation du stress qui influe directement sur la résistance et l'état immunitaire des animaux. Les conditions d'élevage des animaux influent sur la circulation des cryptosporidies au sein de l'exploitation et favorisent la contamination.

### III-3-2-2- Variation de la prévalence en fonction des localisations de *Cryptosporidium* sp.

La prévalence du parasite diffère d'un organe à un autre, selon l'espèce parasitaire et la voie d'inoculation. Les résultats sont illustrés dans la figure 26.



T : trachée, B : bourse de Fabricius, C : cloaque I : intestin P : proventricule

**Figure 26** : Fréquence des localisations de *Cryptosporidium*

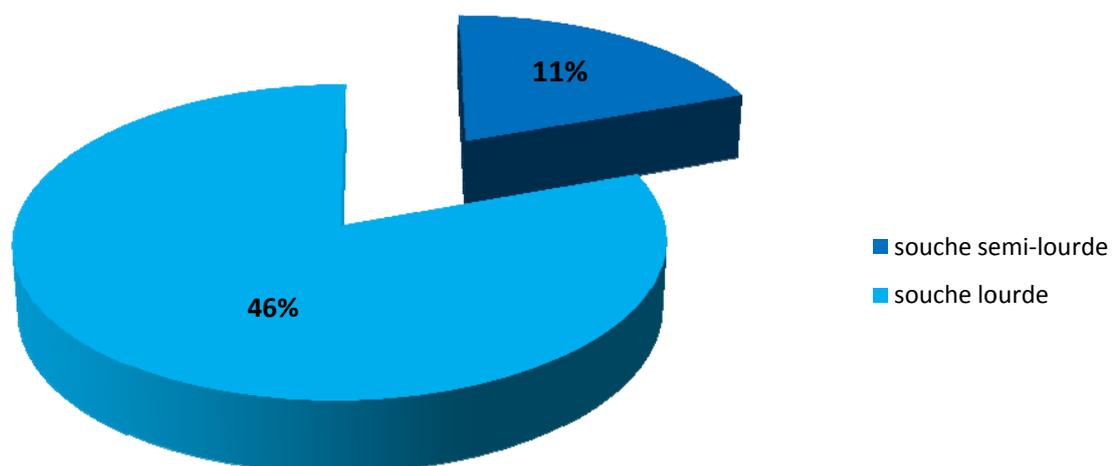
La bourse de Fabricius représente l'organe le plus infecté par *Cryptosporidium* sp., soit une fréquence de 23,81% [8,22 - 47,17%], suivi par le cloaque et l'intestin avec des fréquences respectives de 15,79% [3,38 - 39,58%] et 9% [1,12 - 29,16%]. Les organes les moins affectés sont la trachée et le proventricule avec 4,55% [0,12 - 22,84%]. Chez l'oiseau, le développement de *Cryptosporidium baileyi* s'accompagne pratiquement toujours d'une colonisation de la bourse de Fabricius (Mosele, 1998). De même, quelle que soit la voie

d'inoculation, on retrouve *Cryptosporidium baileyi* dans le cloaque et la bourse de Fabricius, dû à une ingestion des sécrétions respiratoires et conjonctivales (Lindsay et Blagburn, 1986). Ceci peut expliquer l'importance des taux enregistrés au niveau de ces deux organes : bourse de Fabricius (23,81%) et cloaque (15,79%).

Ces résultats sont différents de ceux rapportés par plusieurs auteurs qui considèrent que chez le dindon, la forme respiratoire est la plus fréquente (Hoerr *et al.*, 1978 ; Glisson *et al.*, 1984 ; Tarwid *et al.*, 1985). Par contre, d'autres auteurs signalent des épisodes de diarrhée associées aux cryptosporidies (Slavin, 1955 ; Goodwin *et al.*, 1988a ; Wages et Ficken, 1989).

Bien que les résultats des infections expérimentales montrent que la forme respiratoire soit la plus fréquente chez le dindon, ce dernier reste l'hôte de référence de *Cryptosporidium meleagridis* soupçonné à l'origine des épisodes d'entérite cryptosporidienne chez les oiseaux (Mosele, 1998).

### III-3-2-3- Variation de la prévalence de *Cryptosporidium* sp. en fonction de la souche



**Figure 27** : Variation de la prévalence de *Cryptosporidium* sp. en fonction de la souche

Les exigences économiques ont encouragé une sélection des souches à large poitrine, à croissance rapide et poids élevé.

Durant notre enquête, 22 dindes sont examinées, dont 9 sont des dindes de souche semi-lourde (Nicolas 700) et 13 de souche lourde (Big 6). Nos résultats (figure 27) montrent une différence significative entre les taux d'infection par *Cryptosporidium* sp. des deux souches. Elle est de 46% [19,22 - 74,87%] pour les dindons de souche lourde et de 11% [0,28 - 48,25%] pour ceux de la souche semi-lourde.

Contrairement à ce qui est observé chez le poulet, le caractère "souche" (potentiel génétique) a une influence sur la prévalence de l'infection cryptosporidienne chez les dindons. Ceci peut être le résultat de la sélection car, chez le poulet, la prise de poids est homogène alors que chez le dindon, la largeur de la poitrine est le caractère ciblé par les sélectionneurs. En effet, l'augmentation de taille de la poitrine déplace le centre de gravité du tronc et l'effort pour maintenir l'équilibre en station debout est augmenté. Ainsi une plus grande tension est nécessaire pour rester debout et se déplacer (Martrenchar, 1999 ; Hafez, 2000). Cet effort supplémentaire est cause de stress et par conséquent d'immunodépression, d'où agression par divers germes dont les cryptosporidies.

La sélection génétique des souches lourdes à croissance rapide représente une cause majeure à l'origine d'augmentation des pathologies locomotrices (Martrenchar, 1999 ; Hafez, 2000), d'où une difficulté d'accès aux mangeoires, avec pour conséquence un organisme affaibli prédisposé aux infections. Ainsi, il est démontré que des carences prolongées en vitamine E, sélénium et acides aminés essentiels engendrent une immunodépression sévère (Silim et Rekik, 1992).

Les facteurs génétiques semblent donc intervenir dans l'apparition de plusieurs pathologies. Cependant, les cryptosporidioses peuvent être attribuées à des causes variables, le plus souvent difficiles à identifier.

#### **III-4- Signes cliniques et lésions**

Chez les poulets provenant des élevages infectés par *Cryptosporidium*, les signes cliniques observés sont des signes généraux non spécifiques, à savoir les râles (28%), la cachexie (22%) et la diarrhée (20%). Les lésions macroscopiques observées au niveau de la bourse de Fabricius consistent en l'atrophie de celle-ci ou la présence d'exsudat caséux dans

sa lumière. Au niveau de l'appareil respiratoire, la présence d'un exsudat mucoïde et abondant à la surface de la muqueuse trachéale et une opalescence des sacs aériens sont notées (figure 28). Au niveau de l'intestin, les lésions se limitent à une simple congestion de la muqueuse.

Nos résultats sont différents de ceux rapportés par Kichou *et al.* (1996) qui retrouve une prédominance des symptômes digestifs, avec de la diarrhée (30%), et respiratoires, avec des râles (18%). Ces symptômes sont généraux et ne reflètent pas le tableau clinique de la maladie. Les mêmes lésions sont retrouvées chez le dindon.



Cachexie (saillie de l'os du bréchet)



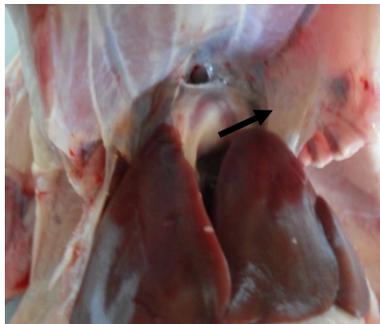
Diarrhée jaune mousseuse.



Bourse de Fabricius atrophiée et hémorragique.



Congestion de la trachée



Opalescence des sacs aériens



Congestion intestinale

**Figure 28** : Signes cliniques et lésions rencontrés lors d'infection par *Cryptosporidium* sp. (photos personnelles)

# Conclusion

**P**rovoquées par des parasites de la famille des coccidies, les cryptosporidioses sont des maladies à caractère ubiquiste et cosmopolite. Leur importance épidémiologique s'est peu à peu précisée avec le développement de techniques de détection plus fiables et plus faciles à mettre en œuvre.

Cette maladie est sous-diagnostiquée en pratique courante, même si *Cryptosporidium* sp. peut être concomitant avec d'autres agents pathogènes, surtout les virus, mais parfois seul en cause lors de certains épisodes morbides.

Notre enquête a permis de faire le point sur la situation dans nos élevages et de mettre en évidence ainsi l'importance qui est celle de la cryptosporidiose dans les quelques élevages étudiés dans la wilaya de Boumerdes. Nos résultats sont confirmés par ceux retrouvés par d'autres auteurs, notamment pour ce qui concerne la prévalence de la maladie.

Durant notre étude, quelques facteurs de risque sont répertoriés, ce qui permet d'établir un lien étroit entre l'apparition de la cryptosporidiose et d'autres paramètres, à savoir l'âge, la saison, la souche, l'organe cible et les conditions d'élevage. L'âge, l'organe cible et les conditions d'élevage restent cependant les facteurs les plus incriminés.

Aussi, la recherche de ces parasites, facilitée par des techniques de diagnostic simple, devrait être instaurée systématiquement dans toute la filière avicole, aussi bien à l'occasion d'épisodes pathologiques que lors de contrôles de routine. Ceci permettrait de cerner plus précisément leur distribution dans la filière avicole, et en particulier dans les élevages reproducteurs pour lesquels peu de données sont actuellement disponibles.

Les résultats obtenus lors de cette étude permettent d'émettre quelques recommandations, autant aux éleveurs qu'aux vétérinaires, qui permettraient, sinon de juguler, du moins d'atténuer l'impact de ces affections dans les élevages :

- Aucune thérapeutique spécifique contre *Cryptosporidium* n'étant disponible, seule la prophylaxie sanitaire, basée sur le respect des règles d'hygiène, peut prévenir l'apparition de la maladie ou sa propagation.

- A cause des pertes économiques qu'elle provoque (perte de poids et mortalités), la cryptosporidiose doit être prise en compte de façon plus sérieuse par tous les intervenants de la filière avicole : éleveurs, techniciens et vétérinaires.
- La formation du personnel, particulièrement aux règles d'hygiène, est une nécessité, de même que la professionnalisation de l'activité.
- La qualité des matières premières doit être constante, et l'aliment doit répondre aux exigences de la souche exploitée, afin que les animaux puissent exprimer pleinement leur potentiel immunitaire, bien que les données actuelles ne permettent pas de mettre en cause, comme chez les humains, le rôle de l'immunodépression dans ces pathologies.
- La recherche de ces parasites, facilitée par les techniques de diagnostic simple, doit être instaurée systématiquement pour l'ensemble de la filière avicole.
- Enfin, des études à plus grande échelle seraient utiles afin de cerner la distribution des parasites dans la filière avicole, en particulier dans les élevages de reproducteurs, pour lesquels peu de données sont actuellement disponibles.

**Références**

**Bibliographiques**

## A

---

**Abbassi H.**, Coudert F., Cherel Y., Naciri M., 1997. *Effect of oncogenic Marek's disease virus and vaccinal virus on the pathology induced by Cryptosporidium baileyi*. VIIth International Coccidiosis Conference and COST 820 Workshop, Oxford (England), 1-5 Sept. 1997, Session Abstracts, p: 108.

**Abbassi H.**, Coudert F., Cherel Y., Fort G., Mancassola R., Naciri M., 1997a. *Development of acquired immunity to Cryptosporidium baileyi in chickens inoculated with infectious bursal disease virus*. VIIth International Coccidiosis Conference and COST 820 Workshop, Oxford (England), 1-5 Sept. 1997, Session Abstracts, p: 109.

**Ahmed A.**, Abou-Eisha A.M., Arafa I.A.A., 1995. *Cryptosporidiosis in commercial chickens*. Assiut. Vet. Med. J. Vol. 65, p. 223-229.

**Akiyoshi D.E.**, Dilo J., Pearson C., Chapman S., Tumwine J., Tzipori S., 2003. *Characterization of Cryptosporidium meleagridis of human origin passaged through different host species*. Infection and immunology. Vol. 71, p. 1828-1832.

**Anonyme**, 2007. Ministère du tourisme. Direction du tourisme et de l'artisanat de la wilaya de Boumerdes. *Boumerdes*.

**Anonyme**, 2008. Manuel terrestre de l'OIE. 2008. *Cryptosporidiose*. Chapitre 2.9.4, p. 1307- 1331.

**Awadalla S.F.**, Badawy B.A., Naguib E.F., Hegazi S.H., 1995. *Effect of dexaméthasone on immunity against Cryptosporidia infection in chickens*. Vet. Med. J. Giza. Vol. 43, p. 25-30.

## B

---

**Blagburn B.L.**, Lindsay D.S., Giambrone J.J., Sundermann C.A., Hoerr F.J., 1987. *Experimental Cryptosporidiosis in broiler chickens*. Poul. Sci. Vol. 66, p. 442-449.

**Blagburn B.L.**, Lindsay D.S., Hoerr F.J., Atlas A.L., Toiviokinnucan M., 1990. *Cryptosporidium sp infection in the proventriculus of an Australian diamond firetail finch (Staganoplura bella Passeriformes, Estrildidae)*. Avian. Dis. Vol. 34, p. 1027-1030.

**Blagburn B.L.**, Lindsay D.S., Hoerr F.J., Davis J. F., Giambrone J.J., 1991. *Pathobiology of cryptosporidiosis (C. baileyi) in broiler chickens*. J. Protozool. Vol. 38, p. 25s-28s.

**Bourgouin H.**, 1996. La place de la cryptosporidiose dans les maladies néo-natales du veau en Corrèze. Bull. GTV. Vol. 2B, p. 19-41.

**Bryan J.**, Latimer K.S., 2007. *An Overview of Cryptosporidiosis*. Class of 2007 (Bryan) and Department of Pathology (Latimer), College of Veterinary Medicine, the University of Georgia Athens, GA 30602-7388.

## C

---

**Cama V.A.**, Sterling C.R., 1991. *Hyperimmune hens as a novel source of anti-cryptosporidium antibodies suitable for passive immune transfer*. J. Protozool. Vol. 38, p. 42S-43S.

**Campbell P.N.**, Current W. L., 1983. Demonstration of serum antibodies to *Cryptosporidium sp.* in normal and immuno-deficient humans with confirmed infections. J. Clin. Microbiol. Vol. 18, p. 165-169.

**Chauve C.M.**, Gounel J.M., Reynaud M.C., 1991. *Les coccidies du canard mulard. Bilan d'une première enquête réalisée dans trois élevages du sud-ouest de la France*. Avian. Pathol. Vol. 20, p. 713-719.

**Cheadle M.A.**, Toivio-Kinnucan M., Blagburn B.L., 1999. *The Ultrastructure of gametogenesis of Cryptosporidium baileyi (Eimeriorina; Cryptosporidiidae) in the respiratory tract of broiler chickens (Gallus domesticus)*. J. Parasitol. Vol. 85, p. 609-615.

**Chermette R.**, Boufassa Ouzrout S., 1988. *Cryptosporidiose : une maladie animale et humaine cosmopolite*. Serie tech n°5. 2<sup>ème</sup> édition. Ed.Off. Int. Epizoo. Paris : 127p.

**Chermette R.**, Tarnau C., Boufassa Ouzrout S., Couderc O., 1989. *Survey en equine Cryptosporidiosis in Normandy. Coccidia and intestinal coccidiomorphs*. Vth International coccidiosis conference, Tours, France, p. 493-498.

**Coombs G. H.**, 1999. *Biochemical peculiarities and drug targets in Cryptosporidium parvum: lessons from other coccidian parasites*. Parasitol. Tod. Vol. 15, N° 8, p. 333-338.

**Current W.L.**, Upton S.J., Haynes T.B., 1986. *The life cycle of Cryptosporidium baileyi* n sp. (*Apicomplexa: Cryptosporidiidae*) infecting chickens. J. Protozool. Vol. 33, p. 289-296.

**Current W.L.**, Snyder D.B., 1988. *Development of serologic evaluation of acquired immunity to Cryptosporidium baileyi* by broiler chickens. Poultry Sci. Vol. 67, p. 720-729.

**Current W.L.**, 1990. *Technique and laboratory maintenance of Cryptosporidium*. In *Cryptosporidiosis of man and animals*. (Ed. Dubey J.P., Speer C.A., Fayer R.). CRC. Press. Boston, p. 31-50.

**Current W.L.**, Garcia L.S., 1991. *Cryptosporidiosis*. Clin. Microbiol. Rev. Vol. 4, n° 3, p. 325-358.

## D

---

**De Graaf D.C.**, Vanopdenbosch E., Ortega-Mora L.M., Abassi H., Peeters J.E., 1999. *A review of the importance of cryptosporidiosis in farm animals*. Int. J. Parasitol. Vol. 29, p. 1269-1287.

**Ditrich O.**, Palkovic L., Sterba J., Prokopic J., Loudova J., Giboda., 1991. *The first finding of Cryptosporidium baileyi* in man . Parasitol. Res. Vol. 77, p. 44-47.

**Dobos-Kovacs M.**, Varga I., Bekesi L., Dren C.N., Nemeth I., Farkas T., 1994. *Concurrent cryptosporidiosis and chicken anemia virus infection in broiler chickens*. Avian. Pathol. Vol. 23, p. 365-368.

**Duhamel C.**, Barbier D., Morel C., Georges P., 1995. *Parasitologie des selles. Étude de quelques opportunistes. Aspects pratiques, pièges à éviter. Feuilles de biologie*. Vol. 36, n° 204, p.31-36.

## E

---

**Euzeby J.**, 1987. *Caractère généraux des Apicomplexa*. Protozool. Méd.comp. Vol. 2. Fondation Marcel Mérieux. Lyon. P. 84-100.

**Euzeby J.**, 2002. *La cryptosporidiose humaine*. Bull. Acad. Natle. Méd. Vol. 186, n ° 5, p. 837-850.

## F

---

- Fayer R.**, Leek R.G., 1984. *The effects of reducing conditions, medium, pH, temperature, and time on in vitro excystation of Cryptosporidium*. J. Protozool. Vol. 31, p. 567-569.
- Fayer R.**, Ungar B.L.P. 1986. *Cryptosporidium spp and cryptosporidiosis*. Microbiol. Rev. Vol. 50, N° 4, p. 458-483.
- Fayer R.**, Speer C.A., Dubey J.P., 1990. *General biology of Cryptosporidium*. In: *Cryptosporidiosis of Man and Animals*. Ed. Dubey J.P., Speer C.A. & Fayer R. CRC Press. Boston, p. 1-30.
- Fayer R.**, Morgan, U. M., Upton, S. J., 2000. *Epidemiology of Cryptosporidium: Transmission, detection and identification*. Int. J. Parasitol. Vol. 30, p. 1305- 1322.
- Fayer R.**, 2009. *Taxonomy and species delimitation in Cryptosporidium*. Exp. Parasitol. Doi: 10.1016/j.exppara. 2009.03.005.
- Fernandez A.**, Quezada M., Gomez M.A., Navarro J.A., Rodriguez J., Sierra M.A., 1990. *Cryptosporidiosis in chickens from southern Spain*. Avian. Dis. Vol. 34, p. 224-227.
- Fletcher O.J.**, Munnell J.F., Page R.K., 1975. *Cryptosporidiosis of the bursa of Fabricius of chickens*. Avian. Dis. Vol. 19, p. 630-639.
- Floretti D.P.**, Moretti A., Tacconi G., 1991. *Intestinal cryptosporidiosis of roaster and broiler chicken flocks in central Italy*. Acta. Med. Vet. Vol. 37, p. 149-157.

## G

---

- Gajadhar A.A.**, 1993. *Cryptosporidium species in imported ostriches and consideration of possible implication for birds in Canada*. Can. Vet. J. Vol. 34, p. 115-116.
- Gajadhar A.A.**, 1994. *Host specificity studies and oocyst description of a Cryptosporidium sp. Isolated from ostriches*. Parasitol. Res. Vol. 80, p. 316-319.
- Gardiner C.H.**, Imes G.D., 1984. *Cryptosporidium sp. in the Kidneys of a black-throated finch*. J. Am. Vet. Med. Assoc. Vol. 185, p. 1401-1402.
- Gardiner C.H.**, 1988. *An Atlas of Protozoan Parasites in Animal Tissues*, USDA Agriculture Handbook, N° 651.
- 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*. Thèse : Doctorat 3<sup>ème</sup> cycle. Option : Parasitologie. p. 1-82.

**Gharagozlou M. J.**, Dezfouli O., Rahbari S., Bokaie S., Jahanzad I., Razavi A.N.E., 2006. *Intestinal Cryptosporidiosis in turkey in Iran*. J. Vet. Med. Vol. A 53, p. 282-285.

**Glaberman S.**, Sulaiman I.M., Bern C., Limor J., Peng M.M., Morgan U., Gilman R., Lal A.A., Xiao L., 2001. *A multilocus genotypic analysis of Cryptosporidium meleagridis*. J. Eucaryot. Microbiol. Suppl, p. 19-22s.

**Glisson J.R.**, Brown T.P., Brugh M., Page R.K., Kleven S.H., Davis R.B., 1984. *Sinusitis in turkeys associated with respiratory cryptosporidiosis*. Avian Dis. Vol. 28, p. 783-790.

**Goodwin MA.**, Brown J., 1988. *Histologic incidence and distribution of cryptosporidium sp. Infection in chickens*. Avian. Dis. Vol. 32, p. 365-369.

**Goodwin MA.**, Latimer K.S., Steffens W.L., Martin P.W., Resurreccion R.S., Smeltzer M.A., Dickson T.G., 1988. *Respiratory cryptosporidiosis in chickens*. Poult. Sci. Vol. 67, p. 1684-1693.

**Goodwin MA.**, Steffens W.L., Russell I.D., Brown J., 1988 a. *Diarrhea associated with small-intestinal cryptosporidiosis in turkey*. Avian. Dis. Vol. 32, p. 63-67.

**Goodwin MA.**, 1989. *Cryptosporidiosis in Birds – A Review*. Avian. Patho. Vol. 18, p. 365 – 384.

**Goodwin MA.**, Brown J., 1989. *Intestinal Cryptosporidiosis in chickens*. Avian. Dis. Vol. 33, p. 770-777.

**Goodwin MA.**, Brown J., 1989 a. *A geographical locus for respiratory cryptosporidiosis in Georgia broilers*. Avian. Dis. Vol. 33, p. 368-369.

**Goodwin MA.**, Brown J., 1990. *Effect of Cryptosporidium baileyi on broilers infected at 26 days of age*. Avian. Dis. Vol. 34, p. 458-462.

**Goodwin MA.**, Brown J., Fletcher O.J., 1990. *The relationship of Cryptosporidium sp. infection of the burse of Fabricius, intestinal tract and respiratory system of chickens in Georgia, 1974-1988*. Avian. Dis. Vol. 34, p. 701-703.

**Goodwin MA.**, Waltman W.D., 1994. *Clinical and pathological finding in young Georgia broiler chickens with oculofacial respiratory disease (“So-called swollen heads”)*. Avian. Dis. Vol. 38, p. 376-378.

**Goodwin MA.**, 1995. *Esophageal and proventricular cryptosporidiosis in a chicken*. Avian. Dis. Vol. 39, p. 643-645.

**Goodwin MA.**, Brown J., Resurreccion R.S., Smith J.A. 1996. *Respiratory coccidiosis (Cryptosporidium baileyi) among Northern Georgia broilers in one company*. Avian. Dis. Vol. 40, p. 572-575.

**Griffiths J.K.**, 1998. *Humain cryptosporidiosis: epidemiology, transmission, clinical disease, treatment, and diagnosis*. Adv. Parasitol. Vol. 46, p. 37-85.

**Guarino A.**, Canani R.B., Pozio E., 1994. *Enterotoxic effect of stool supernatant of Cryptosporidium-infected calves on humain jejunum (see comments)*. Gastroenterol. Vol. 106, p. 28-34.

**Guy J.S.**, Levy M.G., Ley D.H., Barnes H.J., 1987. *Experimental reproduction of enteritis in bobwhite quail (Colinus virginianus) with Cryptosporidium and réovirus*. Avian. Dis. Vol. 31, p. 713-722.

## H

---

**Hafez H. M.**, 2000. *Diseases of musculoskeletal system*. World. Poult. P. 22- 23.

**Hajdusek O.**, Ditrich O., Slapeta J., 2004. *Molecular identification of Cryptosporidium spp. In animal and humain hosts from the Czech Republic*. Vet. Parasitol. Vol. 122, p. 183-192.

**Harp J. A.**, Goff J. P., 1995. *Protection of calves with a vaccine against Cryptosporidium parvum*. J. Parasitol. Vol. 81, p. 54-57.

**Harris J.R.**, Petry F., 1999. *Cryptosporidium parvum structural components of the oocyst wall*. J. Parasitol. Vol. 85, p. 839-849.

**Hatkin J.M.**, Lindsay D.S., Giambone J.J., Hoerr F.J., Blagburn B.L., 1990. *Experimental biliary cryptosporidiosis in broiler chickens*. Avian. Dis. Vol. 34, p. 454-457.

**Hatkin J.M.**, Giambone J.J., Blagburn B.L., 1993. *Kinetics of serum antibodies responses in broiler chicks against Cryptosporidium baileyi*. Avian. Pathol. Vol. 22, p. 525-532.

**Henriksen S.A.**, Pohlenz H.V., 1981. *Staining of Cryptosporidia by a modified Ziehl Neelsen technique*. Acta. Vet. Scand. Vol. 22, p. 594-596.

**Hoerr F.J.**, Ranck F.M., Hastings T.F., 1978. *Respiratory Cryptosporidiosis in turkeys*. J. Am. Vet. Med. Assoc. Vol. 173, p. 1591-1593.

**Hoerr F. J.**, Current W. L., Haynes T. B., 1986. *Fatal Cryptosporidiosis in quails*. Avian. Dis. Vol. 30, N° 2, p. 421-425.

**Hornok S.**, Heijmans J.F., Békési L., Peek H.W., Dobos-Kovacs M., Drén Cs. N., Varga I., 1998. *Interaction of chickens anemia virus and Cryptosporidium baileyi in experimentally infected chickens*. Vet. Parasitol. Vol. 76, p. 43-55.

# I

---

**Itakura C.**, Goryo M., Umemura T., 1984. *Cryptosporidial infection in chickens*. Avian. Pathol. Vol. 13, p. 487-499.

**Itakura C.**, Nakamura H., Umemura T., Goryo M., 1985. *Ultrastructure of Cryptosporidial cycle in chicken host cells*. Avian . Pathol. Vol. 14, p. 237-249.

# K

---

**Kichou F.**, El-Houadafi M., Jaouzi T., 1990. *Cryptosporidiose de la bourse de Fabricius du poulet de chaire au Maroc : à propos du premier cas*. Maghreb Vét. Vol. 5, p. 5-7.

**Kichou F.**, Saghir F., El Hamidi M., 1996. *Infection naturelle de Cryptosporidium sp. Chez le poulet de chair au Maroc*. Avian. Pathol. Vol. 25, p. 103-111.

# L

---

**Latimer K.S.**, Steffens W.L., Rakich P.M., Ritchie B.W., Niagro F.D., Kircher I.M., Lukert P.D., 1992. *Cryptosporidiosis in four cockatoos with psittacine beak and feather disease*. J .Am. Vet. Med. Assoc. Vol. 200, p. 707-710.

**Leng X.**, Mosier D.A., Oberst R.D., 1996. *Differentiation of Cryptosporidium parvum, C. muris and C. baileyi by PCR-RFLP analysis of the 18s rRNA gene*. Vet. Parasitol. Vol. 62, p. 1-7.

**Levy M. G.**, Ley D. H., Barnes H.J., Geric T. M., Corbett W. T., 1988. *Experimental cryptosporidiosis and infectious bursal disease virus infection of specific pathogen-free chickens*. Avian. Dis. Vol. 32, p. 803-811.

**Ley D.H.**, Levy M.G., Hunter L., Corbett W.T., Barnes H.J., 1988. *Cryptosporidia-positive rates of avian necropsy assessions determined by examination of auramine O-stained fecal smears*. Avian. Dis. Vol. 32, p. 108-113.

**Lindsay D.S.**, Blagburn B.L., 1986. *Cryptosporidium sp. infections in chickens, produced by intra-cloacal inoculation of oocysts*. J. Parasitol. Vol. 72, p. 615-616.

- Lindsay D.S.**, Blagburn B.L., Sundermann C.A., 1986. *Host specificity of Cryptosporidium sp isolated from chickens*. J. Parasitol. Vol. 72, p. 565-568.
- Lindsay D.S.**, Blagburn B.L., Sundermann C.A., Hoerr F.J., Ernest J.A., 1986 a. *Experimental Cryptosporidium infections in chickens: oocyst structure and tissue specificity*. Am. J. Vet. Res. Vol. 47, p. 876-879.
- Lindsay D.S.**, Blagburn B.L., Ernest J.A., 1987. *Experimental Cryptosporidium parvum infections in chickens*. J. Parasitol., Vol. 73, p. 242-244.
- Lindsay D.S.**, Blagburn B.L., Hoerr F.J., 1987 a. *Experimentally induced infections in turkeys with Cryptosporidium baileyi isolated from chickens*. Am. J. Vet. Res. Vol. 48, p. 104-108.
- Lindsay D.S.**, Blagburn B.L., Hoerr F.J., Giambrone J.J., 1987 b. *Experimental Cryptosporidium baileyi infections in chickens and turkeys produced by ocular inoculation of oocysts*. Avian. Dis. Vol. 31, p. 355-357.
- Lindsay D.S.**, Blagburn B.L., Sundermann C.A., Hoerr F.J., Giambrone J.J., 1987 c. *Cryptosporidium baileyi: effects of intra-abdominal and intravenous inoculation of oocysts on infectivity and site of developpement in broiler chickens*. Avian. Dis. Vol. 31, p. 841-843.
- Lindsay D.S.**, Blagburn B.L., Sundermann C.A., Ernest J.A., 1987d. *Chemoprophylaxis of Cryptosporidiosis in chickens, using halofuginone, salinomycine, lasalocide, or monensin*. Am. J. Vet. Res. Vol. 48, p. 354-355.
- Lindsay D.S.**, Blagburn B.L., Sundermann C.A., Hoerr F.J., 1988. *Experimental infections in domestic ducks with Cryptosporidium baileyi isolated from chickens*. Avian. Dis. Vol. 33, p. 69-73.
- Lindsay D.S.**, Blagburn B.L., Sundermann C.A., 1989. *Morphometric comparaison of the oocysts of Cryptosporidium mélagridis and Cryptosporidium baileyi from birds*. Proc. Helminthol. Soc. Wash. Vol. 56, p. 91-92.
- Lindsay D.S.**, Blagburn B.L., 1990. *Cryptosporidiosis in birds*. In Dubey J.P., Speer C.A., and Fayer R., eds., *Cryptosporidiosis of man and animals*, CRC Press, Boca Raton, FL, p. 125-148.
- Lindsay D.S.**, Blagburn B.L., Hoerr S.J., Smith P.C., 1991. *Cryptosporidiosis in zoo and pet birds*. J. Protozool. Vol. 38, P. 180S-181S.

**Lindsay D.S.**, Upton S.J., Owens D.S., Morgan U.M., Mead J.R., Blagburn L., 2000. *Cryptosporidium andersoni* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from cattle, *Bos Taurus*. J. Eukaryot. Microbiol. Vol. 47, p. 91-95.

## M

---

**Marcial M. A.**, Madara J. L., 1986. *Cryptosporidium: cellular localization, structural analysis of absorptive cell parasite membrane- membrane interaction in guinea pigs and suggestion of protozoan transport by M cells*. Gastroenterology. Vol. 90, p. 583-594.

**Martrenchar A.**, 1999. *Animal welfare and intensive production of turkey broilers*. World. Poult. Sci. J. Vol. 55, p. 143- 152.

**Mason R.W.**, Hartley W.J., 1980. *Respiratory cryptosporidiosis in a peacock chick*. Avian. Dis. Vol. 24, p. 771-776.

**Mason R.W.**, 1986. *Conjunctival Cryptosporidiosis in a duck*. Avian. Dis. Vol. 30, p. 598-600.

**Meireles M.V.**, Soares R.M., Dos Santos M.M.A.B., Gennari S.M., 2006. *Biological studies and molecular characterization of a Cryptosporidium isolate from ostriches (Struthio camelus)*. J. Parasitol. Vol. 92, p. 623-626.

**Morgan U. M.**, Monis P. T., Fayer R., Deplazes P., Thompson R. C. A., 1999. *Phylogenetic relationships amongst isolates of Cryptosporidium: evidence for several new species*. J. Parasitol. Vol. 85, p. 1126-1133.

**Morgan U. M.**, Xiao L., Limor J., Gelis S., Raidal S.R., Fayer R., Lal A., Elliot A., Thompson R. C. A., 2000. *Cryptosporidium meleagridis in an Indian ring-necked parrot (Psittacula Krameri)*. Aust. Vet. J. Vol. 78, p. 182-183.

**Morgan U. M.**, Monis P. T., Xiao L., Limor J., Sulaiman I., Raidal S., O'Donoghue P., Gasser R., Murrey A., Fayer R., Blagburn B.L., Lal A.A., Thompson R.C.A., 2001. *Molecular and phylogenetic characterisation of Cryptosporidium from birds*. Int. J. Parasitol. Vol. 31, p. 289-296.

**Morin R.**, 2002. *Cryptosporidiose chez les ruminants*. www.bibli.vet-nantes.fr .thèse. Morin 02-148.biblio. Pdf.

**Mosele D.**, 1998. *Les cryptosporidioses aviaires : Synthèse bibliographique*. Thèse de doctorat vétérinaire. ENV-Alfort, p. 1-89.

## N

---

**Naciri M.**, 1987. *Cryptosporidiose : nouveautés bibliographiques et observations personnelles*. Bull. G. T. V. Vol. 3, P. 39-42.

**Naciri M.**, Mazzella O., 1988. *Association cryptosporidiose et maladie de Marek chez des poulets nains*. Rec. Méd. Vét. Vol. 164, p. 311-312.

**Naciri M.**, Mazzella O., Coudert F., 1989. *Interaction Cryptosporidies-virus sauvage de la maladie de Marek chez le poulet*. Rec. Méd. Vét. Vol. 162, p. 51-56.

**Naciri M.**, 1992. *La cryptosporidiose. Importance de la contamination de l'eau*. INRA prod. Anim. Vol. 5, N° 5, p. 319-327.

**Naciri M.**, 1994. *Cryptosporidiose des ruminants et santé publique*. Le point vétérinaire. Vol. 26, n° (spécial), p. 875-881.

**Naciri M.**, Mancassola R., Reperant J.M., Yvore P., 1994. *Analysis of humoral immune response in chickens after inoculation with Cryptosporidium baileyi or Cryptosporidium parvum*. Avian. Dis. Vol. 38, p. 832-838.

**Naciri M.**, Lacroix S., Laurent F., 2001. *La cryptosporidiose des ruminants (2<sup>ème</sup> partie) : diagnostic, moyens de lutte et risques pour l'homme*. Act. Vet. N° 1543, p. 11-18.

**Nakamura K.**, Abe F., 1988. *Respiratory (especially pulmonary) and urinary infections of Cryptosporidium in layer chickens*. Avian. Pathol. Vol. 17, p. 703-711.

**Nanduri J.**, Williams S., Aji T., Flanigan T.P., 1999. *Characterization of an immunogenic glycolyx on the surfaces of Cryptosporidium parvum oocysts and sporozoites*. Infection and immunity. Vol. 67, N° 4, p. 2022-2024.

**Nime F.A.**, Burek J.D., Page D. L., Olscher M. A., Yardley J. H., 1976. *Acute enterocolitis in a human being infected with protozoan Cryptosporidium*. Gastroenterology. Vol. 70, p. 592-598.

## O

---

**O'Donoghue P. J.**, Tham U.L., Desaram W.G., Paull K.L., McDermott S., 1987. *Cryptosporidium infections in birds and mammals and attempted cross transmission studies*. Vet. Parasitol. Vol. 26, p. 1-11.

**O'Donoghue P.J.**, 1995. *Cryptosporidium and Cryptosporidiosis in man and animals*. Int. J. Parasitol. Vol. 25, N° 2, p. 139-195.

## P

---

**Pancieria R.J.**, Thomassen R.W., Garner F.M., 1971. *Cryptosporidial infection in calf*. Vet. Pathol., Vol. 8, p. 479-484.

**Papadopoulou C.**, Xylouri E., Zisides N., 1988. *Cryptosporidial infection in broiler chickens in Greece*. Avian. Dis. Vol. 32, N° 4, p. 842-843.

**Pavlasek I.**, Kopacka M., Nikitin V.F., Kozlova G.A., Korovikov S.E. 1989. *Cryptosporidiosis in broiler fowis*. Vet. Vol. 2, p. 39-41.

**Pavlasek I.**, 1999. *Cryptosporidia: biology, diagnosis, host spectrum specificity and the environment*. Klinicka Mikrobiologie a infekcni Lekastvi. Vol. 3, p. 290-301.

**Pavlasek I.**, 2001. *Finding of cryptosporidia in the stomach of chickens and of exotic and wild birds*. Veterinar. stvi. Vol. 51, p. 103-108.

**Peeters J.**, Villacorta I., 1995. *Cryptosporidium. Guidelines on techniques in coccidiosis research*. Editors: Eckert J., Braun R., Shirley M.W., Couder P., Biotechnology COST 89/820, Report EUR 16602 EN, European commission, Brussels, p. 202-240.

**Petry F.**, Harris J. R., 1999. *Ultrastructure, fractionation and biochemical analysis of Cryptosporidium parvum sporozoites*. Int. J. Parasitol. Vol. 29, N° 8, p. 1249-1260.

## Q

---

**Qureshi M.A.,**Havenstein G.B., 1994. *Une comparaison de la performance immunitaire d'un commercial 1991 poulet de chair avec une souche de 1957, lorsque randombred nourris "typique" 1957 et 1991 des régimes de poulets de chair.* Poult. Sci. Vol. 73, n° 12, p. 1805-12.

## R

---

**Radu S.,** Dan S., 1985. *Identification of Cryptosporidium in turkey poult and chickens in Romania.* Rev. Crest. Anim. Vol. 6, p. 55-58.

**Ranck F.M.,** Hoerr F.J., 1987. *Cryptosporidia in the respiratory tract of turkey.* Avian. Dis. Vol. 31, p. 389-391.

**Randall C.J.,** 1986. *Renal and nasal Cryptosporidiosis in a junglefowl (Gallus sonneratii).* Vet. Rec. Vol. 119, p. 130-131.

**Rauw W.M.,** Kanis E., Noordhuizen-Stassen E.N., Grommers F.J., 1998. *Les effets secondaires indésirables de sélection pour l'efficacité de production élevés chez les animaux de la ferme: un examen.* Science de production animale. Vol. 56, n° 1, p. 15-33.

**Rhee J.K.,** Seu Y.S., Park B.K., 1991. *Isolation and identification of Cryptosporidium from various animals in Korea. I. Prevalence of Cryptosporidium in various animals.* Korean. J. Parasitol. Vol. 29, p. 139-148.

**Rhee J.K.,** Jang B.G., Park B.K., 1995. *Oocyst production and immunogenicity of Cryptosporidium baileyi in chickens and mallards.* Korean. J. Parasitol. Vol. 33, p. 45-54.

**Rhee J.K.,** Kim H.C., Park B.K., 1997. *Effects of Cryptosporidium baileyi infection on the bursa of Fabricius in chickens.* Korean. J. Parasitol. Vol. 35, n° 3, p. 181-187.

**Ryan U.M.,** Xiao L., Read C., Sulaiman I.M., Monis P., Lal A.A., Fayer R., Pavlasek I., 2003. *A redescription of Cryptosporidium galli Pavlasek, 1999 (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from birds.* J. Parasitol. Vol. 89, p. 809-813.

**Ryan U.M.,** Xiao L., 2008. *Avian cryptosporidiosis*. In: Fayer R., Xiao L. (Eds.), *Cryptosporidium and cryptosporidiosis*. CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton, p. 395-418.

**Ryan U.M.,** 2010. *Cryptosporidium in birds, fish and amphibians*. Exp. Parasitol. Vol. 124, p. 113-120.

---

## S

---

**Shemshadi B.,** Bahadori S.R., Mazafari A., 2010. *Study on cryptosporidiosis incidence in broilers in Garmsar region, Iran*. Comp. Clin. Pathol.

**Silim A.,** Rekik R.M., 1992. Immunologie des oiseaux. In: Manuel de pathologie aviaire. Brugere-Picoux J., Silim A., Ed. Chaire de pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour, École Nationale Vétérinaire d'Alfort, p. 87-96.

**Sironi G.,** Rampin T., Burzoni G., 1991. *Cryptosporidiosis in game birds*. Vet. Rec. Vol. 129, p. 337-338.

**Slavin D.,** 1955. *Cryptosporidium meleagridis n sp*. J. Comp. Pathol. Vol. 65, p. 262-266.

**Smith M. U.,** Caccio S.M., Cook N., Nichols R.A.B., Tait A., 2007. *Cryptosporidium and Giardia as foodborne zoonose*. Vet. Parasitol. Vol. 149, p. 29-40.

**Soares J.,** 2003. *Épidémiologie des épidémies alimentaires a Cryptosporidium parvum*. Thèse vétérinaire : Lyon.

**Solatges C.,** 2008. *Les dermatoses provoquées par les mycobactéries chez les carnivores domestiques*. Thèse docteur vétérinaire, p. 11.

**Sreter T.,** Varga I., Bekesi L., 1995. *Age-dependent resistance to Cryptosporidium baileyi infection in chickens*. J. Parasitol. Vol. 81, p. 827-829.

**Sreter T.,** Varga I., Bekesi L., 1996. *Effects of bursectomy and thymectomy on the development of resistance to Cryptosporidium baileyi in chickens*. Parasitol. Res. Vol. 82, p. 174-177.

**Sreter T.,** Varga I., 2000. *Cryptosporidiosis in birds a review*. Vet. Parasitol. Vol. 87, p. 261-279.

**Sundermann C.A.**, Lindsay D.S., Blagburn B.L., 1987. *In vitro* excystation of *Cryptosporidium baileyi* from chickens. Protozool. Vol. 34, p. 28-30.

---

## T

---

**Tadeja-Simborio L.**, Itakura C., 1993. Ultrastructural changes of chick bursal epithelial cells experimentally infected with *Cryptosporidium* sp. Avian. Pathol. Vol. 22, p. 113-129.

**Tarwid J.N.**, Cawthorn R.J., Riddell C. 1985. *Cryptosporidiosis in the respiratory tract of turkeys in Saskatchewan*. Avian. Dis. Vol. 29, p. 528-532.

**Tyzzler E.E.**, 1907. A sporozoan found in the peptic glands of the common mouse. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. Vol. 5, p. 12-13.

**Tyzzler E.E.**, 1910. An extracellular coccidium, *Cryptosporidium muris* (gen. et sp. nov), of the gastric gland of the common mouse. J. Med. Res. Vol. 23, p. 487-509.

**Tyzzler E.E.**, 1912. *Cryptosporidium parvum* (sp. nov.), a coccidium found in the small intestine of the common mouse. Arch. Protistenkd. Vol. 26, p. 394-412.

Tyzzler E.E, 1929. Coccidiosis in gallinaceous birds. Am. J. Hyg., 10: 269-383.

**Tzipori S.**, Angus K.W., Campbell I. Gray E.W., 1980. *Cryptosporidium: evidence for a single-species genus*. Infect. Immun. Vol. 30, p. 884-886.

**Tzipori S.**, Campbell I., 1981. Prevalence of *Cryptosporidium* antibodies in 10 animal's species. J. Clin. Microbiol. Vol. 14, p. 455-456.

**Tzipori S.**, 1998. *Cryptosporidiosis: laboratory investigations and chemotherapy*. Adv. Parasitol. Vol. 40, p. 187-221.

**Tzipori S.**, Griffiths J.K., 1998. *Natural history and biology of Cryptosporidium parvum*. Adv. Parasitol. Vol. 40, p. 5-36.

**Tzipori S.**, O'Donoghue P., Watkins J., Smith M., Anderews R.H., Chilton N.B., Upcroft P., Upcroft J.A., Morgan U., Thompson R.C.A., Casemore D.P., Widmer G., Gasser R.B., Carter D.A., Rochelle P.A., Jutras E.M., De Leon R., Stewart M.H., 1999. *Isolation, propagation and*

*characterisation of Cryptosporidium*. Edited by Gasser R.B and O'Donoghue P. Int. J. Parasitol. Vol. 29, p. 1379- 1413.

**Tzipori S.**, Ward H., 2002. *Cryptosporidiosis: biology, pathogenesis, and disease*. Microb. Infect. Vol. 4, p. 1047-1058.

## U

---

**Uni S.**, Iseki M., Maekawa T., Moriya K., Takada S., 1987. *Ultrastructure of Cryptosporidium muris (strain RN 66) parasitizing the murine stomach*. Parasitol. Res. Vol. 74, p. 123-132.

## V

---

**Varga I.**, Sretter T., Bekesi., 1995. *Potentialisation of ionophorous anticoccidials with duokvin: battery trials against Cryptosporidium baileyi in chickens*. J. Parasitol. Vol. 81, p. 777-780.

**Vetterling J.M.**, Takeuchi A., Madden P.A., 1971. *Ultrastructure of Cryptosporidium wrairi from the guinea pig*. J. Protozool., Vol. 18, p. 248-260.

## W

---

**Wages D.P.**, Ficken M.D., 1989. *Cryptosporidiosis and turkey viral hepatitis in turkeys*. Avian. Dis. Vol. 33, p. 191-194.

**Woodmansee D.B.**, 1987. *Studies of in vitro excystation of Cryptosporidium parvum from calves*. J. Protozool. Vol. 34, p. 398-402.

**Woodmansee D.B.**, Pavlasek I., Pohlenz J.F.L., Moon H.W., 1988. *Subclinical Cryptosporidiosis of turkey in Iowa*. J. Parasitol. Vol. 74, p. 898-900.

## X

---

**Xhia H. L.**, Zhang D. J., Huang X. F., 1991. *Survey on Cryptosporidium sp. infections in domestic animals in Anhui province*. Chinese. J. Vet. Sci. Tech. Vol. 21, p. 13-14.

# Z

---

**Zha H. B.**, Jiang J.S., 1994. *Life cycle of Cryptosporidium meleagridis in quails*. Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica. Vol. 25, p. 273-278.

# **Annexes**

## ***Annexe I : Matériels de laboratoire utilisés pour la mise en évidence des cryptosporidies***

### **1) Matériel utilisé pour la technique de concentration (Technique de Ritchie)**

- Balance électrique.
- Verre à pied conique.
- Agitateur en verre.
- Tubes à centrifugations avec bouchon en caoutchouc.
- Portoirs à tube.
- Centrifugeuse.
- Baguette en bois.
- Pipettes pasteur.
- Lames porte-objet.
- Microscope optique.

#### Réactifs :

- Eau formolée à 10% (100 ml de formol pur dans 900 ml d'eau distillée).
- Éther diéthylique.

### **2) Matériel utilisé pour la coloration de Ziehl Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz**

- Lames bien dégraissées (avec un mélange Alcool-Éther).
- Bacs à coloration.
- Pincés.
- Minuterie.
- Eau de robinet.
- Microscope optique.

#### ***Réactifs et colorants***

- Méthanol pur.
- Fuchsine phéniquée de Ziehl modifiée, préparée au laboratoire.
- Acide sulfurique à 2%, préparé au laboratoire.
- Vert de malachite à 5%.

### **3) Matériel utilisé pour la préparation des coupes histologiques**

- Les tissus que nous souhaitons analyser histologiquement.
- La paraffine.
- Porte bloc.
- Bistouri.
- Microtome.
- Bain Marie.
- Lames porte-objet.
- Lamelles.

#### ***Réactifs***

- Formol à 10% (fixateur).
- Alcool (70°, 90° et 100°) (déshydrater).
- Toluène

### **4) Matériel utilisé pour la coloration topographique hemalun éosine**

- Bacs à coloration.
- Pincés.
- Minuterie.
- Eau de robinet.
- Microscope optique.

#### ***Réactifs***

- Toluène.
- Alcool (70°/90°/100°).
- Hemalun.
- Éosine.

### **5) Autre matériel**

- Pots en plastique propres ou stériles pour les prélèvements des matières fécales
- Glacière pour l'acheminement des prélèvements vers les laboratoires.
- Étiquettes autocollantes pour inscrire les renseignements.
- Gants.
- Ciseaux pour l'autopsie.

***Annexe II: Fiche d'enregistrement***

***Nom du propriétaire : Guechtouli Mounir***

***Adresse : Zemmouri***

***Type d'élevage : Poulet de chair***

***Type de bâtiment : serre agricole***

***Souche : Arbor acres***

***Date de mise en place : 02 /02/10***

### ***Annexe III : Fiche de renseignement***

***Date du prélèvement : 07/03/10***

***Age du poulet : 34 jours***

***Nombre de sujets prélevés : 2 sujets morbides***

***Consistance et couleur des matières fécales : diarrhéiques / verdâtre***

***Signes cliniques : signes respiratoires (râles), digestifs (diarrhée) et abattement.***

***Lésions : Péri-hépatite / péricardite/ aérosacculite et une congestion de la muqueuse intestinale***

***Traitement : Colistine***

***Conditions d'élevage et ambiance générale : litière humide/ odeur ammoniacale (mauvaise aération du bâtiment).***

***Résultat après analyses :***

***Raclages : présence du parasite au niveau : Cloaque / intestin/proventricule/ bourse de Fabricius***

***Histopathologie : présence du parasite au niveau : Cloaque / intestin bourse de Fabricius***

***N.B :*** pour le proventricule : soit nous avons fait une mauvaise lecture, soit le parasite été en petite quantité au niveau de la lumière du proventricule (pas sur l'épithélium), d'où l'utilité d'utiliser deux méthodes.

**Annexe IV :** Mode opératoire de la technique de concentration Ritchie simplifiée par Allan et Ridley



Prendre 5 g de fèces dans un verre à pied conique



Ajouter un volume de formol 2 à 3 fois supérieur puis agiter puis laisser décanter 1 à 2 min



Mettre 2/3 du surnageant et 1/3 d'éther



Centrifuger à 2500 tours pendant 5 min.

Après centrifugation, Jeter énergiquement le surnageant et garder le culot.



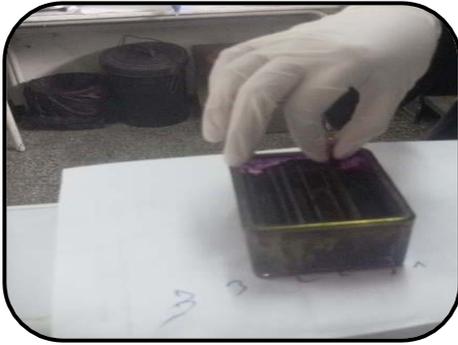
Avec une pipette Pasteur prendre quelques gouttes sur lame



Étaler avec une lame

Fixer au méthanol pendant 5 min, sécher à l'air puis Colorer avec la coloration de Ziehl Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz

**Annexe V :** Mode opératoire de la Coloration de Ziehl Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz (1981)



Coloration dans la fuchsine phéniquée pendant 1 heure



Rinçage à l'eau du robinet



Différenciation dans de l'acide sulfurique à 2% pendant 30



Rinçage à l'eau du



Coloration dans le vert de malachite pendant 5 min



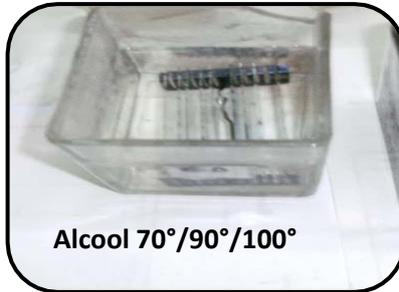
Rinçage à l'eau du robinet

Laisser sécher à l'air puis lire au microscope photonique

**Annexe VI : Mode opératoire de la Coloration topographique Hemalun Éosine**



Déparaffinage dans 2 baignoires de Toluène 5 mn



Alcool 70°/90°/100°

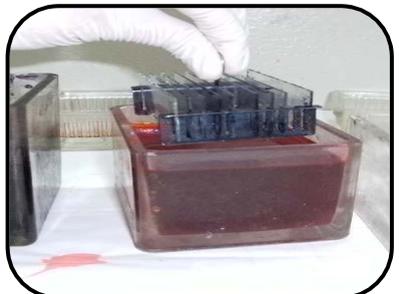
Réhydratation dans 3 baignoires d'alcool à concentrations décroissantes



Rinçage à l'eau distillée



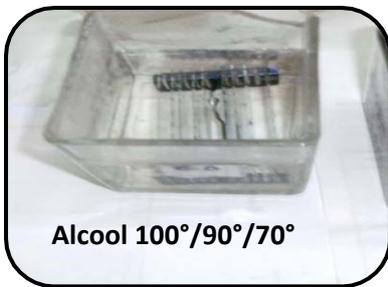
Coloration à l'hémalun (1 mn)



Coloration à l'hémalun (mn)



Rinçage à l'eau courante (Après chaque colorant)



Alcool 100°/90°/70°

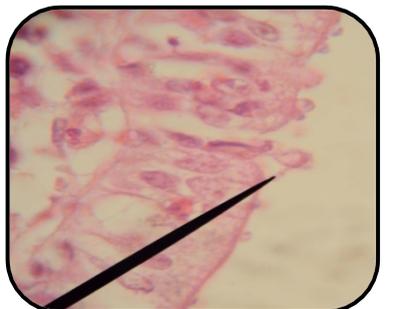
Déshydratation: 3 baignoires d'alcool à différentes concentrations « croissantes »



Éclaircissement : 2 baignoires de Toluène (5 mn/baignoire)



Montage : monter sous lamelle à l'aide de résine



Lecture des lames histologiques au microscope

**Annexe VII : Quelques caractéristiques des bâtiments des centres d'élevage étudiés .**

<b>Élément</b>	Bâtiments classés à bonne conditions d'élevage	Bâtiments classés à conditions d'élevage moyennes	Bâtiments classés à mauvaises conditions d'élevage
<b>Mur</b>	bâtiments en panneaux « sandwich »	dur	Serres agricoles
<b>Toiture</b>	Aluminium	éternit	/
<b>Sol</b>	bétonné	bétonné	Terre battue
<b>Ventilation</b>	extracteurs	Fenêtre	Fenêtre
<b>Refroidissement</b>	pad-cooling	Naturel	Naturel
<b>Chaîne d'alimentation</b>	Automatique	Manuel	Manuel
<b>Litière</b>	En paille hachée Renouvellement hebdomadaire	En paille hachée Renouvellement en fin de bande	L'épaisseur n'est pas respectée