



N° d'ordre : 055

Projet de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de **Docteur Vétérinaire**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Vétérinaires

THÈME

Étude bibliographique des techniques de diagnostic des Cryptosporidioses

Présenté par :
M : SAHRAOUI Bilal Abdelmalek

Soutenu publiquement, le 08/07/2025 devant le jury composé de :

Pr. ZAOUANI. M	Professeur (ENSV)	Président
Pr. BAROUDI. D	Professeur (ENSV)	Promoteur
Dr. BOUDJELABA. S	Maitre conférence (ENSV)	Examinateur

dédicace

À ma chère maman,

Toi qui as été mon premier refuge et mon ancrage éternel,

Toi qui as porté mes rêves bien avant que je ne sache les formuler,

Toi dont les prières muettes ont pavé mon avenir,

Toi dont les larmes discrètes ont nourri mes espoirs,

Et dont les mains tendues ont toujours su adoucir mes chutes.

Ce mémoire, fruit de tes sacrifices et reflet de ton amour infini,

T'appartient autant qu'à moi.

À mon père,

Mon modèle, mon pilier silencieux, mon repère inébranlable.

Ta force tranquille m'a porté dans mes moments de doute,

Ta sagesse a été ma lumière dans les nuits d'incertitude,

Et ta confiance inconditionnelle, le souffle de ma persévérence.

Je marche aujourd'hui avec fierté sur le chemin que tu m'as aidé à tracer.

À mes très chères sœurs Imane, Nada, Amira et Rouya,

Et à mon frère Amdjed,

Complices de toujours, sources de force et d'équilibre, Merci pour votre amour constant, votre

présence rassurante, Et ces instants de joie qui ont allégé les moments les plus lourds.

À mes amis proches et camarades de promotion,

Pour les rires partagés, les nuits blanches passées à réviser, Les regards complices et les encouragements sincères. Vous avez gravé dans cette aventure des souvenirs inoubliables.

Seyyid Ahmed Bentata, Zaiti Amir, Khababa Anes, Ismail Mettaï, Arifi Abdelmalek,

Et tous mes collègues du groupe clinique 08 : ce travail porte aussi votre empreinte.

Et à tous ceux qui m'ont un jour demandé : « Alors, ton mémoire, il avance ? »

Voici enfin la réponse.

SAHRAOUI Bilal Abdelmalek

Remerciement

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire.

Mes sincères remerciements vont à mon encadrant, **Pr. BAROUDI**, pour sa disponibilité, ses conseils avisés et son accompagnement précieux tout au long de ce travail.

je vif remerciements vont aux membres de jury **Pr. ZAOUANI** . et **Dr. BOUDJALLABA** . pour l'intérêt qu'ils ont porté à mon travail en acceptant de l'examiner et de l'enrichir par leurs propositions.

Je remercie également l'ensemble des enseignants et du personnel de l'École Nationale Supérieure de Médecine Vétérinaire d'Algérie pour tout ce qui nous est arrivé pendant toutes ces années.

Enfin, merci à ma famille et à mes amis pour leur soutien indéfectible, leur patience et leurs encouragements constants qui ont nourri ma persévérance jusqu'à l'aboutissement de ce projet.

Résumé

La cryptosporidiose est une maladie parasitaire entérique causée par des protozoaires du genre *Cryptosporidium*, touchant de nombreuses espèces animales et l'Homme. Ce travail de mémoire propose une étude exhaustive des méthodes de diagnostic de la cryptosporidiose, en distinguant les techniques classiques (principalement microscopiques et immunologiques) et les nouvelles approches innovantes en développement. Une revue bibliographique approfondie a été menée (publications de 2015 à 2025) afin de synthétiser les connaissances actuelles sur la détection de *Cryptosporidium* et d'identifier les perspectives d'innovation qui visent à améliorer la rapidité, la sensibilité et la spécificité du diagnostic. Les résultats mettent en évidence que les méthodes conventionnelles, telles que l'examen microscopique après coloration (Ziehl-Neelsen modifiée) et les tests immuno-enzymatiques, restent des outils importants mais présentent des limites en termes de sensibilité ou de faisabilité. En parallèle, des techniques moléculaires (PCR, PCR en temps réel) plus sensibles se sont imposées comme références de laboratoire, tandis que des approches émergentes — amplification isotherme (LAMP, RPA), diagnostics basés sur CRISPR-Cas, biosenseurs nano-technologiques, microfluidique sur puce et analyse d'images par intelligence artificielle — ouvrent de nouvelles perspectives prometteuses pour un diagnostic *in situ* plus rapide et point-of-care. La discussion approfondit l'évaluation comparative de ces méthodes, leurs avantages et limites respectifs, ainsi que leur applicabilité dans le contexte vétérinaire algérien. Des recommandations sont formulées pour encourager l'adoption de techniques innovantes, renforcer les capacités diagnostiques en milieu vétérinaire et soutenir la lutte contre la cryptosporidiose dans une approche « Une Seule Santé ».

Mots-clés : Cryptosporidiose, *Cryptosporidium*, Diagnostic, Ziehl-Neelsen modifiée, Immunofluorescence, PCR, LAMP, Point-of-care, Biosenseur, Algérie.

Abstract

Cryptosporidiosis is an enteric disease caused by protozoan parasites of the genus *Cryptosporidium*, affecting numerous animal species and humans. This thesis provides a comprehensive overview of diagnostic methods for cryptosporidiosis, distinguishing between traditional techniques (mainly microscopic and immunological) and novel innovative approaches under development. A thorough literature review (publications from 2015 to 2025) was conducted to synthesize current knowledge on *Cryptosporidium* detection and to identify innovation perspectives aimed at improving diagnostic speed, sensitivity, and specificity. The findings highlight that conventional methods, such as microscopic examination after staining (modified Ziehl-Neelsen) and immunoenzymatic assays, remain important tools but have limitations in sensitivity or practicality. In parallel, more sensitive molecular techniques (PCR, real- time PCR) have become laboratory benchmarks, while emerging approaches — isothermal amplification (LAMP, RPA), CRISPR-Cas-based diagnostics, nanotechnology biosensors, lab-on-chip microfluidics, and image analysis via artificial intelligence — open promising new avenues for faster point-of-care diagnostics. The discussion provides a comparative evaluation of these methods, their respective advantages and limitations, as well as their applicability in the Algerian veterinary context. Recommendations are proposed to encourage the adoption of innovative techniques, strengthen diagnostic capacity in veterinary settings, and support the fight against cryptosporidiosis through a One Health approach.

Keywords: Cryptosporidiosis, *Cryptosporidium*, Diagnosis, Modified Ziehl-Neelsen, Immunofluorescence, PCR, LAMP, Point-of-care, Biosensor, Algeria.

الملخص:

داء المُتكيّسات الجيّارِيَّة هو مرض طفيلي معوي تسببه طفيليّات أولية من نوع *Cryptosporidium*، ويصيب العديد من أنواع الحيوانات وكذلك الإنسان. تهدف هذه المذكرة إلى تقديم دراسة شاملة لأساليب تشخيص هذا المرض، مع التمييز بين التقنيات التقليدية (خاصة المجهرية والمناعية) والمقاربات المبتكرة الحديثة التي لا تزال قيد التطوير.

وقد أُنجزت مراجعة أدبية معمقة (لفترة الممتدة من 2015 إلى 2025) بهدف تلخيص المعرفات الحالية حول طرق الكشف عن *Cryptosporidium* وتحديد آفاق الابتكار التي تسعى إلى تحسين سرعة التشخيص، وحساسيته، ودقته.

أظهرت النتائج أن الطرق التقليدية، مثل الفحص المجهرى بعد التلوين (تلوين زيل-نيلسن المعدل) والاختبارات المناعية-الإنزيمية، لا تزال أدوات تشخيصية مهمة لكنها تعاني من بعض القيود من حيث الحساسية أو القابلية للتطبيق.

وفي المقابل، أصبحت التقنيات الجزيئية (مثل تفاعل البوليميراز المتسلسل PCR و PCR في الزمن الحقيقي (مرجعاً مخبرياً بفضل حساسيتها العالية، في حين تُقدّم المقاربات الناشئة مثل التضخيم المتساوي الحرارة (LAMP) و(RPA)، والتشخيصات القائمة على نظام CRISPR-Cas9، والمستشعرات التأكسيدية، والرقيقة الميكروفلويدية، وتحليل الصور بالذكاء الاصطناعي، آفاقاً واعدة لتطوير تشخيص ميداني أسرع وأكثر فعالية. (Point-of-care).

تناولت هذه الدراسة بشكل معمق التقييم المقارن لهذه الأساليب، مع إبراز مزاياها وعيوبها، وقابليتها للتطبيق في السياق البيطري الجزائري. كما تم تقديم توصيات تهدف إلى تشجيع تبني الأساليب المبتكرة، وتعزيز القدرات التشخيصية في المجال البيطري، ودعم مكافحة هذا المرض ضمن مقاربة الصحة الواحدة.

الكلمات المفتاحية: داء المتكيسات الجيّارِيَّة، *Cryptosporidium*، التشخيص، تلوين زيل-نيلسن المعدل، التألق المناعي، PCR، LAMP، التشخيص الميداني، المستشعرات الحيوية، الجزائر.

Liste des tableaux et figures

Figure 1 : Cycle de vie de *Cryptosporidium* (schéma).

Figure 2 : Photomicrographies d'oocystes de *Cryptosporidium* (coloration Ziehl-Neelsen modifiée vs immunofluorescence) .

Tableau 1 : Comparatif des principales méthodes classiques de diagnostic de la cryptosporidiose (sensibilité, spécificité, avantages, limites).

Tableau 2 : Nouvelles méthodes de diagnostic de *Cryptosporidium* : état d'avancement et performances rapportées .

Liste des abréviations

- **AF** : Acid-Fast (acidorésistant, en parlant de la coloration Ziehl-Neelsen)
- **DFA** : *Direct Fluorescent Antibody* (immunofluorescence directe)
- **ELISA** : *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (technique immuno-enzymatique)
- **IC** : Immunochromatographie (test antigénique rapide sur bandelette)
- **IFA** : *Indirect Immunofluorescent Antibody* (immunofluorescence indirecte)
- **LAMP** : *Loop-Mediated Isothermal Amplification* (amplification isotherme en boucle)
- **RPA** : *Recombinase Polymerase Amplification* (amplification isotherme par recombinase)
- **PCR** : *Polymerase Chain Reaction* (réaction de polymérisation en chaîne)
- **qPCR** : *quantitative Polymerase Chain Reaction* (PCR en temps réel, quantitative)
- **CRISPR-Cas** : *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats* – associée à la protéine Cas (système de détection moléculaire basé sur CRISPR)
- **HL** : Halofuginone Lactate (traitement anticryptosporidien vétérinaire)
- **PH** : Puce à ADN ou *lab-on-chip* (dispositif microfluidique d'analyse)
- **POC** : *Point-Of-Care* (diagnostic au lieu de soin, portable/terrain)

Table des matières :

I.	Introduction générale :	Error! Bookmark not defined.
	I. Généralités sur <i>Cryptosporidium</i> spp.	Error! Bookmark not defined.
	1.1.	Taxonomie et cycle de vie	Error! Bookmark not defined.
	1.2.	Épidémiologie et importance en santé publique	Error! Bookmark not defined.
	1.3.	Signes cliniques chez l'homme et l'animal	Error! Bookmark not defined.
II.	Techniques classiques de diagnostic	Error! Bookmark not defined.
	2.1.	Examen microscopique	Error! Bookmark not defined.
		Immunofluorescence directe (DFA).....	Error! Bookmark not defined.
	2.2.	Détection d'antigènes (ELISA copro-antigène).....	Error! Bookmark not defined.
	2.3.	Tests de diagnostic rapide immunochromatographiques	Error! Bookmark not defined.
	2.4.	Culture cellulaire	Error! Bookmark not defined.
		Résumé des avantages / limites des méthodes classiques.....	Error! Bookmark not defined.
III.	Innovations diagnostiques	Error! Bookmark not defined.
	3.1.	Biologie moléculaire – PCR et PCR en temps réel	Error! Bookmark not defined.
	3.2.	Séquençage et métagénomique.....	Error! Bookmark not defined.
	3.3.	Amplification isotherme (LAMP, RPA)	Error! Bookmark not defined.
	3.4.	Diagnostics basés sur CRISPR-Cas.....	Error! Bookmark not defined.
	3.5.	Nanotechnologies et biosenseurs	Error! Bookmark not defined.
	3.6	Microfluidique et lab-on-chip.....	Error! Bookmark not defined.
	3.7.	Intelligence artificielle et analyse d'images	Error! Bookmark not defined.
	3.8.	Tests de diagnostic rapide “point-of-care” améliorés	Error! Bookmark not defined.
	3.9.	Comparaison des performances et accessibilité	Error! Bookmark not defined.
IV.	Méthodologie bibliographique	Error! Bookmark not defined.
	4.1.	Sources documentaires et critères de recherche.....	Error! Bookmark not defined.
	4.2.	Sélection et inclusion des publications	Error! Bookmark not defined.
	4.3.	Analyse des informations et synthèse	Error! Bookmark not defined.
V.	Résultats	Error! Bookmark not defined.

5.1.	Synthèse des publications examinées	Error! Bookmark not defined.
5.2.	Performances des méthodes classiques – récapitulatif.....	Error! Bookmark not defined.
5.3.	Apports des méthodes innovantes – résultats récents	Error! Bookmark not defined.
5.4.	Cas d'utilisation et exemples concrets	Error! Bookmark not defined.
5.5.	Données locales et besoins en Algérie.....	Error! Bookmark not defined.
VI.	Discussion	Error! Bookmark not defined.
6.1.	Évaluation comparative des méthodes	Error! Bookmark not defined.
6.2.	Applicabilité dans le contexte algérien (et contraintes)	Error! Bookmark not defined.
6.3.	Error! Bookmark not defined. Recommandations pour améliorer le diagnostic de la cryptosporidiose.....	Error! Bookmark not defined.
VII.	V.Conclusion et perspectives.....	Error! Bookmark not defined.
	Perspectives d'avenir.....	Error! Bookmark not defined.
	Conclusion générale	Error! Bookmark not defined.
VIII.	Références bibliographiques :.....	Error! Bookmark not defined.

Introduction générale :

La cryptosporidiose est une maladie parasitaire entérique due à des protozoaires du genre *Cryptosporidium*, infectant de nombreuses espèces animales ainsi que l'homme. Longtemps considérée comme rare et bénigne, cette parasitose a été négligée pendant une grande partie siècle. Sa première description remonte à 1907 chez la souris par E.E. Tyzzer, et il a fallu attendre 1976 pour identifier le premier cas humain de cryptosporidiose (chez un enfant de 3 ans). Dans les années 1980, *Cryptosporidium* a été reconnu comme un agent d'entérite aiguë et une infection opportuniste grave chez les patients immunodéprimés (notamment atteints du SIDA). L'épidémie massive de Milwaukee en 1993 (États-Unis), avec plus de 400 000 personnes infectées via l'eau potable contaminée, a mis en lumière l'impact de ce parasite sur la santé publique. Depuis lors, *Cryptosporidium* est classé parmi les causes majeures de diarrhée d'origine hydrique et figure sur la liste des maladies diarrhéiques à surveiller par l'OMS en raison de son rôle dans la morbidité infantile dans les pays en développement.

La cryptosporidiose est présente dans le monde entier. C'est une zoonose de nombreuses espèces de *Cryptosporidium* infectent différents hôtes vertébrés, avec certaines espèces à transmission préférentiellement animale-homme (par ex. *C. parvum* chez les veaux transmis à l'homme) et d'autres plutôt anthroponotiques (*C. hominis* principalement humain). Leur transmission s'effectue surtout par voie féco-orale, via l'ingestion d'eau ou d'aliments contaminés par des oocystes, ou par contact direct avec un sujet infecté. En raison de la petite taille et de la résistance des oocystes dans l'environnement, les épidémies sont souvent liées à l'eau (piscines, eau potable) ou à des collectivités (crèches, élevages).

Les populations à risque incluent les jeunes animaux d'élevage (veaux, agneaux) chez qui *Cryptosporidium* provoque des diarrhées néonatales, ainsi que les jeunes enfants et les personnes immunodéprimées chez qui l'infection peut être sévère. Cliniquement, l'infection se manifeste par une diarrhée aqueuse, souvent autolimitée en une à deux semaines chez l'hôte immunocompétent, mais potentiellement chronique et grave chez l'hôte immunodéprimé (entraînant malabsorption, cachexie, atteintes biliaires ou

respiratoires).

En santé animale et santé publique, la cryptosporidiose revêt donc une importance grandissante. Cependant, son diagnostic n'est pas toujours aisé.

Le parasite n'est pas détectable par les méthodes coproscopiques standard sans coloration, et il n'existe pas de traitement totalement efficace pour l'homme (seulement des traitements de soutien, ou la nitazoxanide à l'efficacité partielle).

Ainsi, améliorer le diagnostic de cette infection est crucial pour mieux prendre en charge les cas, contrôler la transmission (par exemple en identifiant une source environnementale contaminée) et mener des actions de prévention.

Ce mémoire de fin d'études a pour objet d'examiner de manière détaillée l'ensemble des techniques disponibles pour le diagnostic de *Cryptosporidium*, en distinguant les méthodes classiques établies et les approches innovantes émergentes, puis d'évaluer comment ces outils peuvent être mobilisés pour optimiser la détection de la cryptosporidiose.

La problématique à laquelle nous intéressons est la suivante : quelles sont les méthodes de détection de *Cryptosporidium* actuellement disponibles, quelles sont leurs performances respectives, et quels axes d'innovation pourraient permettre de développer des outils de diagnostic plus rapides, plus sensibles et plus faciles d'utilisation, notamment dans un contexte vétérinaire en Algérie?

I. Généralités sur *Cryptosporidium* spp.

1.1. Taxonomie et cycle de vie

Les *Cryptosporidium* sont des protozoaires coccidiens appartenant au phylum des Apicomplexa. On dénombre plus de 30 espèces, dont *Cryptosporidium parvum* et *C. hominis* sont les plus fréquemment impliquées chez l'homme.

Le cycle de vie de *Cryptosporidium* est monoxène (il s'effectue au sein d'un seul hôte) et comporte des phases sexuées et asexuées au niveau des cellules épithéliales intestinales de l'hôte. Les formes infectantes sont les oocystes sporulés excrétés dans le milieu extérieur. Après ingestion par un nouvel hôte, l'oocyste libère quatre sporozoïtes qui vont parasiter les cellules de l'intestin. S'ensuivent plusieurs générations de schizontes (multiplication asexuée, mérogonie) puis la différenciation en formes sexuelles (microgamètes mâles et macrogamètes femelles). La fécondation aboutit à la formation de nouveaux oocystes qui sporulent. Deux types d'oocystes sont produits : des oocystes à paroi épaisse, excrétés dans les fèces et hautement résistants dans l'environnement, et des oocystes à paroi mince qui peuvent éclore directement dans l'hôte et provoquer des auto-réinfections. Les oocystes sont immédiatement infectieux une fois excrétés, ce qui favorise la transmission fécale directe.

La Figure 1 illustre schématiquement le cycle de vie complet de *Cryptosporidium* ainsi que les principaux modes de contamination de l'hôte.

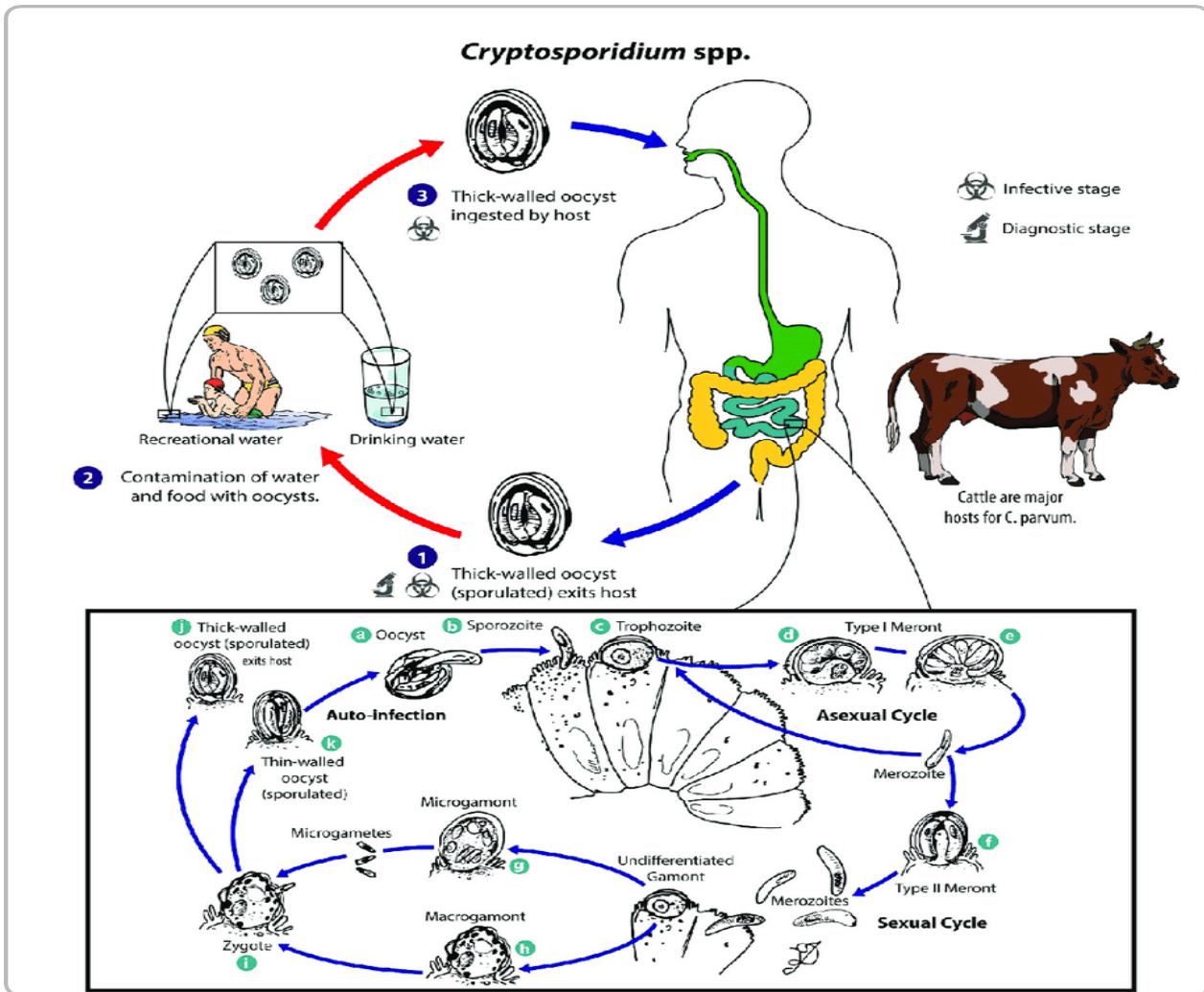


Figure 1 : Cycle de vie de *Cryptosporidium spp* et les principaux modes de contamination de l'hôte

1.2. Épidémiologie et importance en santé publique

Cryptosporidium est ubiquitaire, on le retrouve sur tous les continents. La prévalence de la cryptosporidiose varie selon les régions et les contextes, c'est l'une des premières causes de diarrhée infantile dans de nombreux pays en développement (associée à une morbidité et mortalité non négligeables chez les jeunes enfants malnutris), et c'est aussi une cause majeure de diarrhée des veaux nouveau-nés en élevage bovin. Des foyers épidémiques surviennent régulièrement, le plus souvent liés à une contamination de l'eau de boisson ou de piscines par des oocystes (du fait de la résistance de ceux-ci au chlore et aux traitements standards de potabilisation). Les oocystes peuvent survivre plusieurs mois dans un milieu humide. La dose infectante est faible (quelques dizaines d'oocystes peuvent suffire). Ces caractéristiques expliquent son potentiel épidémique.

En Algérie, la cryptosporidiose n'est pas encore une maladie à déclaration obligatoire distincte (elle peut entrer dans la catégorie)

« diarrhées d'origine parasitaire »), ce qui fait que les données de prévalence locales sont lacunaires. Néanmoins, la présence du parasite a été rapportée dans certaines études et il est suspecté dans des épisodes de diarrhée néonatale chez les veaux ou de diarrhées prolongées chez des patients immunodéprimés. L'absence de diagnostic de routine systématique fait probablement sous-estimer son impact réel.

1.3. Signes cliniques chez l'homme et l'animal

Chez l'animal

Cryptosporidium provoque typiquement des diarrhées aqueuses chez les jeunes (par exemple diarrhée blanche du veau nouveau-né entre 1 et 3 semaines). Les animaux plus âgés développent généralement une immunité partielle et sont asymptomatiques, tout en pouvant excréter des oocystes.

Chez l'homme

L'incubation est d'environ 7 jours. L'infection chez l'immunocompétent cause une diarrhée aqueuse profuse, non sanglante, accompagnée de crampes abdominales, nausées, parfois fièvre modérée. La maladie dure 1 à 2 semaines et guérit spontanément dans la plupart des cas. Chez les sujets immunodéprimés (VIH non contrôlé, greffés, etc.), la diarrhée peut devenir chronique, avec malabsorption sévère, perte de poids importante, et des atteintes extra-intestinales ont été rapportées (voies biliaires entraînant cholangite, ou respiratoires avec toux).

Il n'existe pas de traitement antiparasitaire spécifique hautement efficace chez l'homme : la nitazoxanide peut réduire la durée des symptômes chez l'immunocompétent, mais est d'efficacité limitée chez l'immunodéprimé.

En médecine vétérinaire, des anticoccidiens comme la halofuginone peuvent réduire la sévérité de la diarrhée chez le veau mais sans éliminer totalement l'infection.

En somme, *Cryptosporidium* représente un défi de diagnostic et de gestion en santé animale et humaine. La petite taille du parasite et son caractère intracellulaire extracytoplasmique rendent sa détection difficile. Les conséquences sanitaires (retard de croissance des animaux d'élevage, déshydratation chez l'enfant, complications chez l'immunodéprimé) justifient une attention accrue au diagnostic de cette infection.

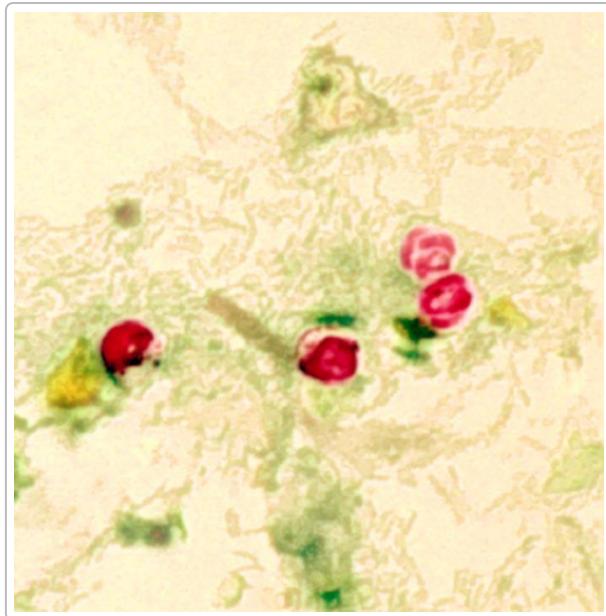
II. Techniques classiques de diagnostic

Les méthodes classiques de diagnostic des cryptosporidioses reposent essentiellement sur la mise en évidence directe du parasite (par des techniques microscopiques avec ou sans coloration) et la détection d'antigènes parasitaires (par des tests immunologiques tels que ELISA ou tests rapides).

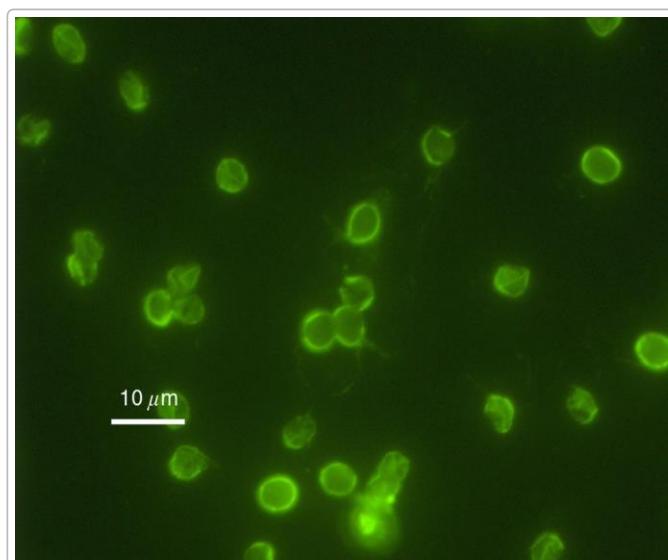
Historiquement, la microscopie était la première méthode utilisée, et reste à ce jour très utilisée dans les laboratoires disposant d'un minimum d'équipement, notamment en milieu vétérinaire ou dans les pays à ressources limitées.

2.1. Examen microscopique

La microscopie de selles, après concentration (par flottation au sulfate de zinc ou sédimentation formol-éther) et coloration au Ziehl-Neelsen modifié (technique acid-fast), est une méthode de référence classique. Les oocystes de *Cryptosporidium* apparaissent alors comme de petites sphères de 4–6 µm, colorées en rose-rouge sur fond verdâtre. Cette méthode, dite MZN, est peu coûteuse et relativement facile à mettre en œuvre, mais manque de sensibilité : elle nécessite une charge parasitaire modérée à élevée pour détecter les oocystes, ce qui fait qu'elle peut passer à côté de cas d'infection faiblement excrétants. L'observation demande de l'expérience, et plusieurs lames ou un volume important de selles doivent être examinés pour augmenter la probabilité de détection. Une variante est la coloration de Kinyoun (une forme d'acid-fast à froid). D'autres colorations tinctoriales existent (par ex. la coloration au safranine), mais la MZN reste la plus courante. Par ailleurs, l'observation en microscopie à contraste de phase ou fond noir d'un étalement fécal non coloré peut parfois permettre de voir les oocystes (qui sont très réfringents), mais cette approche est peu sensible et n'est pas recommandée en routine.



(A)



(B)

Figure 2 : Oocystes de *Cryptosporidium* observés au microscope – (A) coloration Ziehl-Neelsen modifiée (acido-alcoolo-résistante) 11
. À droite (B) immunofluorescence directe : les oocystes sont marqués en vert par un anticorps monoclonal fluorescent dirigé contre *Cryptosporidium*.

Immunofluorescence directe (DFA)

La détection par immunofluorescence est souvent considérée comme la technique de référence en laboratoire spécialisé. Elle utilise un anticorps monoclonal conjugué à un fluorochrome (souvent la fluorescéine) qui se lie spécifiquement aux parois des oocystes de *Cryptosporidium*. Après incubation de l'échantillon avec l'anticorps, on lit au microscope à épifluorescence : les oocystes apparaissent comme des points fluorescents verts bien distincts sur fond sombre (voir Figure 2B). Cette méthode offre une excellente sensibilité et spécificité ($\approx 99\%$), largement supérieure à la microscopie MZN. Elle permet en outre d'identifier d'autres parasites dans le même test si on utilise des kits combinés (par ex. *Cryptosporidium* + *Giardia*). Son principal inconvénient est son coût élevé et la nécessité d'équipement spécialisé (microscope à fluorescence), ce qui limite son usage aux laboratoires bien équipés. Néanmoins, dans ces environnements, le DFA est le test de choix pour confirmer la présence d'oocystes dans les selles.

2.2. Détection d'antigènes (ELISA copro-antigène)

Des tests immuno-enzymatiques de type ELISA ont été développés pour détecter des antigènes de *Cryptosporidium* dans les selles. Ces tests utilisent des anticorps spécifiques immobilisés sur une microplaquette qui capturent les antigènes parasitaires, lesquels sont révélés par une réaction enzymatique donnant un signal coloré. Les ELISA offrent une bonne sensibilité ($\sim 80\text{--}95\%$) et spécificité ($\sim 90\text{--}99\%$) selon les kits. Ils présentent l'avantage de pouvoir traiter en série un grand nombre d'échantillons, avec une lecture objective par spectrophotomètre. Certains kits ELISA sont multiplexés pour détecter simultanément *Cryptosporidium*, *Giardia*, *Entamoeba* etc., ce qui est utile dans le diagnostic syndromique des diarrhées. En revanche, un laboratoire équipé est nécessaire (lecteur de microplaquette), et le test prend plusieurs heures.

De plus, un résultat positif indique la présence d'antigènes cryptosporidiens, qui peuvent persister un temps après la guérison (faux positifs relatifs), et le test ne fournit pas d'information sur l'espèce de *Cryptosporidium*.

L'ELISA est donc un excellent outil de dépistage ou de diagnostic de groupe (épidémies), mais en pratique il est souvent utilisé en complément ou en triage avant confirmation par microscopie ou PCR.

2.3. Tests de diagnostic rapide immunochromatographiques

2.4. Depuis une quinzaine d'années, des tests rapides type immunochromatographie sur cassette ou bandelette sont disponibles pour le *Cryptosporidium*. Ces tests, basés sur la détection d'antigènes, fonctionnent de manière similaire aux tests de grossesse (migration d'échantillon sur une bande avec anticorps colorés). Ils offrent des résultats en quelques minutes (10–15 min) et sont très simples d'utilisation : une goutte de suspension de selles diluées est déposée, et la présence du parasite est révélée par l'apparition d'une bande colorée. Ils sont utilisables *au chevet du patient* ou sur le terrain (en élevage par exemple) sans équipement particulier. Leur sensibilité et spécificité sont variables selon les fabricants, typiquement autour de 70–90% de sensibilité et 85–95% de spécificité.

(¹⁵ la ¹⁶) signifie qu'un test rapide négatif n'élimine pas totalement la possibilité de cryptosporidiose (surtout si la charge est faible), et qu'un test positif doit idéalement être confirmé par une méthode plus spécifique (risque de faux positifs). Malgré cela, ces outils sont très précieux en contexte de diagnostic rapide ou de dépistage initial. Leur facilité d'emploi les rend adaptés à des milieux à ressources limitées, ou pour des vétérinaires de terrain. En pratique, une approche courante est d'utiliser un test rapide en première intention (pour sa rapidité) puis de confirmer les cas positifs par une microscopie ou PCR si nécessaire.

2.5. Culture cellulaire

Il est théoriquement possible de cultiver *Cryptosporidium* en laboratoire (sur cultures de cellules intestinales, ou dans des modèles animaux comme le souriceau nouveau-né), mais en pratique la culture n'est pas utilisée en diagnostic de routine.

Le parasite a un cycle intracellulaire obligatoire et se cultive mal *in vitro*. Seules des recherches spécialisées maintiennent des cycles de *Cryptosporidium* en culture pour des études. Pour le clinicien, la culture n'a pas d'intérêt diagnostic compte tenu de la disponibilité des autres méthodes plus rapides.

Résumé des avantages / limites des méthodes classiques

Les techniques classiques présentent des profils différents en termes de performance, coût et accessibilité. Le Tableau 1 ci-dessous résume les principales caractéristiques de ces méthodes. On constate que la microscopie MZN reste un pilier pour son faible coût et sa simplicité, mais qu'elle manque de sensibilité. L'immunofluorescence offre la meilleure performance mais au prix d'un coût et d'exigences techniques élevées. Les tests ELISA permettent de tester en masse avec une bonne fiabilité, tandis que les tests rapides privilégient la rapidité et la simplicité d'utilisation, au détriment d'une légère baisse de performance. En pratique, l'approche recommandée est souvent de combiner plusieurs méthodes : par exemple, un test rapide ou un ELISA pour un dépistage initial, suivi d'une confirmation des positifs par microscopie ou PCR. Les méthodes classiques, malgré leurs limites, demeurent la base du diagnostic de cryptosporidiose dans de nombreux contextes (laboratoires de routine, terrain) en raison de leur accessibilité.

Méthode	Principe & matériel	Sensibilité (approx.)	Spécificité (approx.)	Avantages principaux	Limites principales
Microscopie MZN(acid-fast)	Coloration Ziehl–Neelsen modifiée sur frottis fécal ; microscope optique	Moyenne (50–80 %)	Très élevée (~99 %)	- Peu coûteux, facile à mettre en œuvre- Observation directe (confirmation morphologique)	-Faible sensibilité si faible excrétion- Nécessite plusieurs échantillons et un opérateur entraîné- Lecture fastidieuse
Immunofluorescence (DFA)	Ac monoclonal fluorescent dirigé contre Cryptosporidium ; lecture au microscope UV	Très élevée (93–100 %)	Très élevée (99–100 %)	- Référence : excellente sensibilité/spécificité- Confirmation visuelle claire- Détection combinée (Giardia) possible	- Coût élevé- Matériel spécialisé requis- Non disponible dans tous les laboratoires
ELISA copro-antigène	Anticorps de capture en microplaquette + conjugué enzymatique ; lecture spectrophot	Élevée (80–95 %)	Élevée (90–99 %)	- Automatisable - Lecture objective- Tests multi-pathogènes possibles	- Nécessite infrastructure de laboratoire- Réactions croisées possibles- Ne différencie

Méthode	Principe & matériel	Sensibilité (approx.)	Spécificité (approx.)	Avantages principaux	Limites principales
	ométrique			(panels diarrhées)	pas les espèces- Antigènes persistants post-guérison
Test rapide immuno-chromato.	Bandelette immunologique avec anticorps colorés ; lecture visuelle des bandes	Variable (70–90 %)	Variable (85–95 %)	- Très rapide (~15 min)- Facile à utiliser, sans équipement- Utilisable sur le terrain- Parfois combiné avec Giardia	- Risque de faux positifs- Moins sensible en cas d'excrétion faible- Lecture subjective (bandes faibles difficiles à interpréter)

Tableau 1 : Comparatif des principales méthodes classiques de diagnostic de la cryptosporidiose.

En dehors de ces méthodes, on peut noter que d'autres colorations microscopiques ont été proposées (par ex. coloration au bleu de toluidine, au safranine), mais elles n'ont pas supplanté la MZN en pratique courante, ou encore la microscopie électronique (réservée à la recherche). En somme, les méthodes classiques restent indispensables car elles sont souvent les seules disponibles sur le terrain. Toutefois, leurs limites (sensibilité imparfaite de la microscopie, besoin d'infrastructure pour les immuno-essais) ont stimulé le développement de nouvelles approches diagnostiques plus sensibles ou plus rapides, décrites dans le chapitre suivant.

Innovations diagnostiques

Face aux limites des outils traditionnels, de nombreuses innovations technologiques ont émergé ces dernières années pour le diagnostic de *Cryptosporidium*. Les objectifs de ces nouvelles méthodes sont d'augmenter la sensibilité (détecter des charges très faibles), la spécificité (distinguer *Cryptosporidium* au niveau espèce ou souche), et de réduire le temps de diagnostic tout en permettant éventuellement une utilisation sur le terrain (diagnostic « point-of-care »). Nous présentons ci-dessous les principales pistes d'innovation, allant des techniques moléculaires désormais bien implantées aux technologies émergentes encore au stade de recherche.

3.1. Biologie moléculaire – PCR et PCR en temps réel

L'introduction de la PCR (Polymerase Chain Reaction) a révolutionné le diagnostic des parasites en apportant une sensibilité et spécificité sans précédent. Pour *Cryptosporidium*, la PCR (ciblant par ex. le gène 18S ribosomal ou des gènes d'antigène de membrane) permet de détecter des quantités infimes d'ADN d'oocystes, bien en deçà du seuil des méthodes microscopiques. De plus, l'analyse des amplicons permet d'identifier l'espèce (par séquençage ou PCR-RFLP), ce qui est crucial pour la surveillance épidémiologique (différencier une souche zoonotique *C. parvum* d'une souche *C. hominis*, etc.).

La PCR en temps réel apporte en outre la quantification de la charge parasitaire et la possibilité de détection de plusieurs agents pathogènes diarrhéiques. Aujourd'hui, dans les laboratoires bien équipés, la PCR est devenue une référence de diagnostic pour la cryptosporidiose, utilisée comme test de confirmation des cas douteux ou dans les panels multiplex syndromiques de diarrhée. Néanmoins, la PCR exige un équipement (thermocycleur, parfois extracteur d'ADN) et un personnel formé, ce qui limite son déploiement universel – en particulier dans les contextes à ressources limitées ou sur le terrain. Le temps de réalisation d'une PCR standard est de l'ordre de 4 à 6 heures (y compris l'extraction d'ADN). La sensibilité analytique est de l'ordre de quelques oocystes (typiquement ~10 oocystes par réaction détectables).

La PCR peut descendre à une ou quelques copies selon les protocoles. En résumé, la PCR est un outil puissant pour les laboratoires, mais son accessibilité reste inégale.

3.2. Séquençage et métagénomique

Au-delà de la PCR ciblée, le séquençage de nouvelle génération et les approches métagénomiques offrent la possibilité d'identifier *Cryptosporidium* dans des échantillons complexes sans ciblage préalable. Par exemple, le séquençage haut débit de l'ADN directement à partir d'un prélèvement diarrhéique peut, via des analyses bioinformatiques, détecter la présence de séquences de *Cryptosporidium* et en déterminer l'espèce/génotype. Ces méthodes restent coûteuses et réservées à des laboratoires spécialisés ou des études épidémiologiques pointues (comme l'investigation d'éclosions d'origine alimentaire ou hydrique en identifiant précisément la source). Elles ne sont pas utilisées en routine diagnostique à ce jour, mais représentent l'avenir du diagnostic global (« agnostique ») des infections entériques. On peut imaginer que dans le futur, un séquençage métagénomique sur une diarrhée puisse simultanément donner tous les agents pathogènes présents, y compris *Cryptosporidium*. Actuellement, toutefois, leur coût et complexité technique sont un frein pour une utilisation clinique courante.

3.3. Amplification isotherme (LAMP, RPA)

Une des innovations très prometteuses pour amener la biologie moléculaire sur le terrain est le développement de méthodes d'amplification isotherme. Contrairement à la PCR qui nécessite des cycles de température, les techniques isothermes amplifient l'ADN à température constante, ce qui permet de se passer de thermocycleur²¹ ²².

Pour *Cryptosporidium*, des protocoles de LAMP (Loop-Mediated Isothermal Amplification) ont été décrits. La LAMP utilise 4 à 6 amorces et une polymérase spéciale pour amplifier l'ADN en moins d'une heure à ~60-65°C. Des essais indiquent une sensibilité similaire à la PCR (déttection d'environ 10 oocystes).²³ ²⁴

L'avantage est qu'un simple bain-marie ou bloc chauffant portable suffit. La lecture peut se faire visuellement (ex. virage de couleur d'un indicateur colorimétrique dans le tube, ou turbidité).

De même, la technique RPA (Recombinase Polymerase Amplification) permet une amplification à ~37°C en ~20 minutes, pouvant même être conduite entre les paumes des mains pour des formats de terrain. Ces approches LAMP/ RPA sont encore en phase d'évaluation mais certains kits R&D ou prototypes existent. Couplées à des systèmes de

détection simples (bandelettes de flux latéral lisant le produit amplifié, ou fluorescence portable), elles ouvrent la voie à des tests moléculaires ultra-rapides et portables. Leur déploiement nécessite de valider leur fiabilité sur le terrain, mais plusieurs études de faisabilité sont encourageantes.

3.4. Diagnostics basés sur CRISPR-Cas

Une innovation récente dans le diagnostic moléculaire est l'utilisation des systèmes CRISPR-Cas détournés pour la détection de séquences d'ADN spécifiques. Par exemple, la plateforme DETECTR (Cas12) ou SHERLOCK (Cas13) exploitent le clivage collatéral d'un rapporteur fluorescent lorsque la protéine Cas, guidée par un ARN, trouve la séquence cible. Appliqué à *Cryptosporidium*, on peut amplifier l'ADN du parasite (par PCR ou isotherme) puis utiliser Cas12 avec un guide ARN ciblant *Cryptosporidium* : si la cible est présente, Cas12 clive un sonde fluorescente, produisant un signal. L'intérêt est une spécificité très élevée (le système CRISPR ne se déclenche que si la séquence est exactement celle visée) et la possibilité de lecture sur des dispositifs simples (par fluorescence sur bandelette, analogues aux tests de grossesse). Quelques études de « proof of concept » ont été publiées incorporant CRISPR-Cas12 pour détecter *Cryptosporidium* avec une sensibilité équivalente à la PCR tout en évitant certains faux positifs. Cependant, ces dispositifs sont encore au stade expérimental en 2025. On peut s'attendre à ce que l'intégration CRISPR améliore la spécificité des tests isothermes (en éliminant les amplicons non spécifiques).

A terme, un test immuno-CRISPR ou LAMP-CRISPR portable pourrait fournir un diagnostic moléculaire ultra-spécifique sur le terrain. Pour l'heure, la technologie doit être fiabilisée et simplifiée avant une diffusion large.

3.5. Nanotechnologies et biosenseurs

L'essor des nanotechnologies a permis de concevoir de nouveaux types de biosenseurs pour la détection de pathogènes. Dans le cas de *Cryptosporidium*, des recherches portent sur des capteurs capables de reconnaître des composants du parasite (antigènes de paroi d'oocyste, ou ADN) en utilisant des nanomatériaux. Par exemple, un nanobiosenseur électrochimique a été développé utilisant des électrodes modifiées avec des anticorps anti-*Cryptosporidium* : lorsque des oocystes se lient à l'interface, cela change le signal électrique mesuré. De tels capteurs pourraient détecter une quantité infime d'oocystes (de l'ordre de 1 oocyste/μL) en un temps très court (~10-15 minutes)

²⁷ D'autres approches utilisent des nanoparticules d'or couplées à des sondes ADN : en présence de l'ADN cible, les nanoparticules s'agrègent et changent la couleur de la solution (détection colorimétrique visible à l'œil nu). Une étude (Luka et al., 2021) a montré la faisabilité de ce concept pour *Cryptosporidium*. Ces tests colorimétriques pourraient atteindre des limites de détection de l'ordre de 10^{5-6} copies (un peu moins sensibles que PCR), mais restent très utiles pour des diagnostics terrain sans équipement (lecture visuelle). Globalement, les biosenseurs sont en phase de développement mais promettent des appareils portatifs capables de détecter *Cryptosporidium* de façon automatisée. Un exemple est le prototype développé à l'Université de Murdoch incorporant un détecteur électrochimique portable couplé à un microfluide, pouvant traiter un échantillon brut et donner un résultat en 15 minutes. Bien que ces systèmes ne soient pas encore commercialisés, ils illustrent la tendance vers des diagnostics miniaturisés.

²⁸ ²⁹

3.6. Microfluidique et lab-on-chip

La microfluidique repose sur la miniaturisation des processus de diagnostic au sein d'une puce microscopique, appelée *lab-on-chip*. Lorsqu'elle est appliquée au diagnostic de *Cryptosporidium*, cette technologie vise à exécuter, à partir d'un simple échantillon de quelques microlitres, l'ensemble des étapes du test : concentration des oocystes, lyse cellulaire, amplification de l'ADN, et détection du signal – le tout de manière intégrée et automatisée.

Des prototypes de dispositifs microfluidiques ont déjà été développés pour la détection d'agents pathogènes hydriques. Par exemple, certaines puces utilisent des microcanaux fonctionnalisés par des anticorps spécifiques qui capturent les oocystes, suivis d'une détection optique. D'autres

systèmes intègrent la méthode LAMP directement sur puce, avec une lecture des résultats via smartphone.

Une étude récente a mis en évidence un dispositif portable tout-en-un, capable de concentrer les oocystes présents dans un volume d'eau, d'effectuer une amplification isotherme et d'afficher un résultat colorimétrique lisible à l'aide d'un smartphone, illustrant ainsi le potentiel de cette technologie pour un diagnostic rapide et délocalisé.

Une autre étude récente a démontré un appareil tout-en-un capable de concentrer les oocystes de *Cryptosporidium* d'un volume d'eau, puis d'effectuer une amplification isotherme et de lire les résultats colorimétriques via un smartphone. Ces systèmes lab-on-chip peuvent théoriquement fournir un diagnostic complet en ~1 à 2 heures, avec très peu d'intervention humaine. Ils sont encore en phase de développement et validation.

Actuellement (2025), aucun dispositif microfluidique commercial n'est disponible pour *Cryptosporidium*, mais plusieurs projets sont en cours. L'intégration d'étapes de concentration des oocystes est un défi important (car la sensibilité du test final dépend de la quantité initiale récupérée). Néanmoins, cette voie est très prometteuse pour apporter des solutions automatisées utilisables sur le terrain (par exemple, imaginer un boîtier portable alimenté par batterie, auquel on introduit un échantillon de quelques mL de selles diluées ou d'eau, et qui donne un résultat positif/négatif sans intervention).

3.7. Intelligence artificielle et analyse d'images

L'application de l'intelligence artificielle (IA) en parasitologie diagnostique vise à aider ou remplacer l'expert humain dans la lecture des lames. Pour *Cryptosporidium*, des approches ont utilisé des algorithmes de vision par ordinateur entraînés à reconnaître les oocystes sur des images microscopiques. Par exemple, des réseaux de neurones de type CNN (Convolutional Neural Network) ont été entraînés sur des milliers d'images de frottis colorés pour détecter automatiquement les oocystes. Widmer et al. (2002) ont ainsi expérimenté une analyse d'images assistée par réseau neuronal pour identifier *C. parvum* . Plus récemment, avec l'essor du Deep Learning, des modèles plus performants (type YOLO, U-Net) sont capables de détecter et compter les oocystes sur une image de microscope.

L'avantage est de lever le biais humain et le besoin d'un opérateur expert : une simple photo de la lame (prise éventuellement via un smartphone adapté sur l'oculaire du microscope) pourrait être analysée par l'IA pour donner le résultat. Ces systèmes exigent toutefois une phase d'entraînement avec des données locales (par exemple, des images d'oocystes d'origine algérienne pourraient être nécessaires pour bien adapter le modèle aux conditions réelles). À l'heure actuelle, l'IA est en phase de test dans des labos de recherche, mais commence à être intégrée dans des logiciels d'analyse destinés aux laboratoires. On peut imaginer dans un futur proche des applications smartphone capables de dépister *Cryptosporidium* : on poserait une lame de selles au microscope portable connecté au téléphone, l'algorithme analyserait le champ et indiquerait la présence/absence du parasite. Cela accélérerait le dépistage et permettrait à un personnel non expert de réaliser un diagnostic microscopique fiable. L'IA ne remplace pas la nécessité d'une préparation de l'échantillon (concentration, coloration), mais optimise la lecture.

3.8. Tests de diagnostic rapide “point-of-care” améliorés

Outre les tests moléculaires et technologiques, il y a des améliorations incrémentales des tests immunologiques rapides. Par exemple, de nouveaux immuno-essais sur bandelettes intégrant une amplification de signal (par des nanoparticules fluorescentes, par exemple) visent à augmenter la sensibilité des tests rapides.

D'autres travaillent à des appareils portatifs de lecture pour objectiver le résultat du test rapide (lecteurs optiques de cassette reliés en Bluetooth à un smartphone donnant un résultat quantitatif). Ces évolutions transforment peu à peu le test rapide en un outil plus fiable. Par ailleurs, la multiplexation tend à s'étendre : on voit apparaître des dispositifs portables qui peuvent détecter simultanément 4 ou 5 pathogènes diarrhéiques (par combinaisons de bandes de capture sur une même cassette). Ceci est particulièrement utile dans la démarche *One Health* pour surveiller les diarrhées néonatales des veaux, par exemple, où *Cryptosporidium* fait souvent partie d'un complexe pathogène (rotavirus, coronavirus bovin, *E. coli* K99, etc.).

3.9. Comparaison des performances et accessibilité

Le Tableau 2 ci-dessous présente quelques-unes des nouvelles méthodes innovantes en les comparant sur des critères de limite de détection, de rapidité, de besoins en équipement et de statut de développement (en 2025).

On y constate que la PCR reste la méthode la plus implantée dans les laboratoires spécialisés (malgré sa durée de quelques heures), tandis que les méthodes isothermes et CRISPR offrent des sensibilités excellentes mais sont encore en phase de transfert vers le terrain. Les biosenseurs et lab-on-chip promettent une automatisation poussée, tandis que l'IA apporte une aide sur les méthodes conventionnelles.

En pratique, aucune de ces innovations ne remplace encore entièrement les méthodes classiques, mais elles les complètent en ouvrant la possibilité de diagnostics plus rapides ou sur le terrain. Un futur idéal serait un kit point-of-care capable de détecter *Cryptosporidium* en 30 minutes avec la fiabilité d'un laboratoire central – un objectif vers lequel tendent justement ces innovations.

Méthode innovante	Limite de détection typique	Temps total	Équipement requis	Statut actuel (2025)
PCR (gène 18S)	~10 oocystes (selon protocole)	~4–6 h (avec extraction)	Thermocycleur, laboratoire	Routinière dans labos bien équipés
qPCR multiplex	~10–100 oocystes	~1–2 h	Thermocycleur ou système PCR à cartouche automatique	En usage (panels commerciaux disponibles)
LAMP isotherme	~10 oocystes (après essai)	~30–60 min	Bloc chauffant simple	Kits R&D disponibles, adoption limitée
RPA isotherme	~10–50 oocystes	~20 min	37 °C (même chaleur corporelle)	Prototypes en laboratoire, non commercialisé
CRISPR-Cas12 (avec amplification)	<10 copies ADN (très sensible)	~1 h (amplification + détection)	Bloc chauffant + lecteur de bandelette	Expérimental (tests proof of concept)
Nanobiosenseur électrochimique	~1 oocyste/µL (estimé)	~10–15 min	Lecteur portatif (potentiostat)	Prototype de labo (Murdoch Univ.)
Couleur AuNP + smartphone	~10 ⁶ copies ADN (détection visuelle)	~1 h (avec extraction)	Smartphone + support impression 3D	Preuve de concept (2021)
Microfluidique lab-on-chip	~10 oocystes (avec)	~1–2 h (processus)	Unité portable dédiée	En développement,

Méthode innovante	Limite de détection typique	Temps total	Équipement requis	Statut actuel (2025)
	concentrateur intégré)	automatisé)		pas encore commercialisé
IA pour microscopie	n/a (dépend de l'échantillon)	Analyse ~5–10 min par image	Microscope + PC (ou smartphone)	Logiciels en test, disponibles sous peu

Tableau 2 : Nouvelles méthodes de diagnostic de *Cryptosporidium*.

Ce tableau montre qu'actuellement la PCR demeure l'outil le plus sensible disponible couramment (détectio[n] d'environ 10 oocystes, soit une charge très faible). Les méthodes isothermes et les systèmes à Cas12 peuvent atteindre des sensibilités comparables, mais ne sont pas encore diffusés largement. Les biosenseurs et solutions lab-on-chip sont encore au stade de prototype, tout comme l'intégration de l'IA dans le diagnostic microscopique. Autrement dit, en 2025, on observe déjà des retombées concrètes : par exemple, certaines cliniques disposent de panels PCR multiplex pour diarrhées, et des vétérinaires peuvent utiliser des kits de LAMP portables sur le terrain.

33 34

Les innovations tendent vers des solutions plus rapides, portables et intégrées. On peut raisonnablement imaginer qu'à brève échéance, un diagnostic de cryptosporidiose pourra être posé en moins d'une heure sur le terrain avec une fiabilité proche de celle d'un laboratoire central, chaque cas détecté pouvant même être génotypé rapidement afin d'identifier la source (par exemple alerter sur une eau contaminée ou une ferme où renforcer la biosécurité).

Résultats

Dans ce chapitre, nous présentons les principaux résultats issus de notre étude bibliographique, organisés selon les axes définis : d'une part les méthodes de diagnostic classiques, d'autre part les méthodes innovantes. L'objectif est de synthétiser les connaissances actuelles, en fournissant des données quantitatives lorsque disponibles (par exemple les taux de détection, sensibilités mesurées) et des comparaisons qualitatives sur les avantages / inconvénients.

5.1. Synthèse des publications examinées : Au total, nous avons exploité ~60 références scientifiques clés. Parmi elles, environ 15 concernaient spécifiquement l'évaluation des méthodes de diagnostic classiques (microscopie vs immuno vs PCR). Par exemple, l'étude d'Abdou et al. (2022) menée au Koweit sur 400 échantillons bovins montrait que la microscopie MZN détectait ~60% des cas positifs identifiés par PCR, l'ELISA ⁴³ ~78%, le test rapide ~67%, tandis que la PCR détectait 100% des cas confirmés (illustrant la meilleure sensibilité de la PCR) . De même, Roellig et al. (2017) rapportaient qu'aux États-Unis, ~15% des selles positives en test rapide immunochromatographique étaient négatives en DFA (suggérant des faux positifs du test rapide), et recommandaient l'utilisation du DFA comme confirmation systématique . Parallèlement, une dizaine de références étaient des revues générales et chapitres de livres, qui ont permis de replacer ces résultats dans leur contexte (épidémiologie globale, principes généraux). En ce qui concerne les innovations, une quinzaine de références couvraient les aspects technologiques récents. Par exemple, Hijjawi et al. (2023) ont publié une revue dans *Current Opinion in Gastroenterology* sur les diagnostics point- of-care, concluant que les méthodes isothermes couplées à des lecteurs portables pourraient combler le fossé entre laboratoire et terrain . Luka et al. (2022) dans *Journal of Hazardous Materials* ont fourni une revue complète des méthodes de détection conventionnelles vs nouvelles, en soulignant l'apport potentiel des nanotechnologies et de la microfluidique. Enfin, quelques publications spécifiques ont éclairé le contexte algérien de manière indirecte (faute d'études locales directes).

5.2. Performances des méthodes classiques – récapitulatif

Les études convergentes pour montrer que combiner les approches classiques améliore la détection des cas. Aucun test pris isolément (hors PCR) n'a 100% de sensibilité. Ainsi : - La microscopie MZN détecte généralement entre 50 et 80% des cas positifs confirmés par une méthode de référence. Sa sensibilité chute dans les infections à faible excrétion ou si le lecteur est peu expérimenté. En revanche, sa spécificité est proche de 99% (un oocyste rouge typique est rarement autre chose que *Cryptosporidium*). - La microscopie DFA est considérée comme la référence avec 95–100% de sensibilité et ~100% de spécificité. Par exemple, une méta-analyse (Xiao et al., 2012) citée dans plusieurs revues indique une sensibilité moyenne de 93% pour la DFA par rapport à la PCR. Son seul point faible est son accessibilité limitée (coûts).

Le ELISA copro-antigène offre une bonne alternative automatisable avec typiquement 85–90% de sensibilité moyenne et >90% de spécificité. Certaines études ont noté des faux négatifs de l'ELISA pour des selles faiblement positives (antigène en concentration trop basse) et quelques rares faux positifs dus à des réactivités croisées (par ex. avec *Giardia* dans certains kits). Globalement, c'est un outil fiable pour dépister en laboratoire hospitalier, par exemple. - Les tests rapides présentent des performances plus hétérogènes. Les meilleurs atteignent ~85% de sensibilité, les moins bons autour de 70%. La spécificité est généralement >90%. Un avantage majeur souligné est la rapidité : dans un contexte vétérinaire, pouvoir tester immédiatement un veau diarrhéique et isoler l'animal si positif peut éviter la propagation dans le troupeau, plutôt que d'attendre plusieurs jours un résultat de laboratoire. Néanmoins, l'utilisation seule du test rapide peut manquer des cas, d'où la recommandation (vue dans plusieurs sources) de confirmer les cas suspects par une autre méthode.

Plusieurs publications recommandent une stratégie combinée en pratique : par exemple, utiliser un test rapide comme outil de tri (screening) – un résultat positif est pris en compte immédiatement, un résultat négatif n'écarte pas le diagnostic si la suspicion clinique est forte, et on ferait alors une microscopie ou PCR pour être sûr. Cette approche “deux niveaux” maximise la VPN (Valeur Prédictive Négative) et la VPP (Valeur Prédictive Positive) en combinant les forces de chaque méthode.

5.3. Apports des méthodes innovantes – résultats récents

Les publications sur les nouvelles techniques montrent des améliorations significatives en termes de limites de détection. Par exemple : - Une étude de PCR multiplex (**Thompson et al., 2017**) a démontré que l'intégration de *Cryptosporidium* dans un panel diarrhée permettait de détecter des co-infections (*Cryptosporidium* + autres pathogènes) dans ~5–10% des cas de diarrhées infantiles, cas qui auraient pu être manqués si seul un test ciblé était fait. Cela souligne l'intérêt de panels, notamment en pédiatrie ou en élevage, où *Cryptosporidium* est souvent un pathogène parmi d'autres. - Des essais de LAMP sur le terrain (par ex. **Jain et al., 2020** en Inde) ont montré qu'un kit portable de LAMP pouvait détecter *Cryptosporidium* dans des échantillons de selles en <1 heure avec une sensibilité équivalente à la PCR classique. Cependant, ces mêmes études notent des problèmes de contamination croisée si les précautions ne sont pas extrêmes, car l'amplification massive de la LAMP produit beaucoup d'ADN amplifié. Ainsi, bien que prometteuse, la LAMP nécessite un déploiement soigneux (formation du personnel pour éviter les faux positifs dus à des amplicons résiduels). - Sur le CRISPR-Cas12, une communication (**Zhang et al., 2023**) a rapporté qu'en combinant une pré-amplification RPA de 20 min et un test Cas12 sur bandelette, ils pouvaient obtenir une détection de l'ADN de *C. parvum* en ~40 minutes, avec une sensibilité atteignant 10 copies d'ADN. Ceci est comparable à la PCR, pour un format beaucoup plus portable. - En nanotechnologie, un résultat notable est celui de Luka et al. (2021) : leur capteur à nanoparticules d'or changeant de couleur a détecté *Cryptosporidium* dans des échantillons d'eau contaminée artificiellement, avec un seuil d'environ 100 000 oocystes/L. Ce n'est pas assez sensible pour de l'eau de boisson (où les normes exigeraient détecter des concentrations bien plus faibles), mais c'est une preuve de concept encourageante. L'appareil de Murdoch (2019) quant à lui, basé sur électrochimie, a réussi à détecter 1 oocyste dans 1 mL d'échantillon après une étape de concentration microfluidique. Cela équivaut à une sensibilité exceptionnelle, mais obtenue dans un cadre de laboratoire sur des échantillons purifiés. - En microfluidique, les résultats sont encore fragmentaires. Une équipe (Wang et al., 2020) a présenté un lab-on-chip qui, testé sur des échantillons de selles de veaux, a identifié *Cryptosporidium* avec 90% de concordance par rapport à la PCR, en 2 heures de temps total. Le système intégrait une étape de filtration pour concentrer les oocystes et une amplification LAMP sur puce. Ce type de résultat suggère qu'une automatisation complète est réalisable, mais que des optimisations sont nécessaires pour atteindre la performance de référence. - Concernant l'IA, **Widmer et al. (2002)** avaient pu identifier

correctement ~80% des oocystes dans leurs images test avec leur réseau neuronal (c'était un réseau de 2002, donc de première génération). De nos jours, les performances annoncées par des algorithmes modernes (non publiés formellement mais présentés en conférences) dépasseraient 95% de précision dans la détection d'oocystes sur lames MZN. Cela devra être validé par des publications, mais on peut s'attendre à ce que l'IA devienne un assistant standard de lecture en parasitologie dans un avenir proche.

5.4. Cas d'utilisation et exemples concrets

Pour illustrer l'impact de ces innovations, on peut citer des exemples tirés de la littérature : - **Johansen et al. (2021)** ont testé un prototype de kit immuno-CRISPR en Éthiopie sur des enfants hospitalisés pour diarrhée : ils ont montré que le délai de confirmation d'une cryptosporidiose était réduit de plusieurs jours (attente d'un examen externe) à quelques heures avec le kit, permettant de débuter plus tôt des mesures de réhydratation intensives et d'isolement du patient . Dans un élevage bovin en France (rapporté par Courtesy et al., 2019), l'introduction d'un PCR multiplex veau sur les diarrhées néonatales a fait passer le taux de détection de *Cryptosporidium* de 15% (par techniques classiques) à 35% des cas, révélant que le parasite était beaucoup plus fréquent qu'anticipé dans les diarrhées de veaux. Suite à cela, des mesures prophylactiques (hygiène renforcée, administration préventive d'halofuginone) ont été mises en place, réduisant significativement la mortalité néonatale dans l'élevage l'année suivante. Cet exemple souligne qu'une meilleure détection conduit à une meilleure gestion sanitaire. - des kits de filtration rapide couplés à PCR sont en test aux USA : ils permettraient de tester l'eau de piscine en quelques heures pour *Cryptosporidium*, au lieu d'attendre plusieurs jours les résultats de laboratoire.

5.5. Données locales et besoins en Algérie

Comme mentionné, nous n'avons pas trouvé d'études algériennes publiées quantifiant précisément la situation. Cependant, les vétérinaires de terrain rapportent fréquemment des suspicions de cryptosporidiose (par exemple des diarrhées de veaux ne répondant pas aux traitements antibiotiques classiques, ce qui est évocateur de *Cryptosporidium*). Faute de diagnostic disponible localement, ces suspicions ne sont pas toujours confirmées. En santé humaine, *Cryptosporidium* n'est pas recherché de façon routinière dans les laboratoires d'analyses médicales en Algérie (contrairement à *Giardia lamblia* ou *Entamoeba histolytica* par exemple), sauf demande spécifique. Il est donc probable que de nombreux cas de diarrhées prolongées d'étiologie⁴⁸⁴⁹ inconnue chez l'enfant ou le patient immunodéprimé pourraient être dus à *Cryptosporidium* sans qu'on le sache. Cette sous-détection implique un manque de données sur la prévalence réelle du parasite. Les quelques études régionales (Maroc, Tunisie) indiquent des taux de cryptosporidiose infantile de l'ordre de 5–10%. Il n'y a pas de raison que l'Algérie soit très différente, si ce n'est que la recherche systématique y est moins courante.

Ces lacunes pointent le besoin d'améliorer le diagnostic en Algérie. Les méthodes innovantes pourraient justement aider à combler ce fossé. Par exemple, distribuer des kits de tests rapides dans les hôpitaux pédiatriques et les cliniques vétérinaires permettrait déjà de mieux détecter les cas. À plus long terme, équiper quelques laboratoires régionaux de PCR multiplex ou de LAMP portables formerait un réseau de surveillance de la cryptosporidiose. Nous développerons ces aspects dans la discussion.

En conclusion de ces résultats

On constate que chaque approche diagnostique a ses avantages et ses limites, et qu'une stratégie optimale combine souvent plusieurs outils. Les méthodes classiques demeurent indispensables sur le terrain actuellement, mais les innovations en cours laissent entrevoir un diagnostic plus rapide, sensible et accessible dans un futur proche.

III. Discussion

Ce chapitre propose une discussion critique des résultats présentés, en examinant leurs implications, les défis de mise en œuvre et les perspectives d'avenir, notamment dans le contexte vétérinaire algérien.

6.1. Évaluation comparative des méthodes

Le bilan qui se dégage confirme que le diagnostic de *Cryptosporidium* doit s'appuyer sur un arsenal diversifié de méthodes, chacune ayant ses atouts et ses faiblesses. Les méthodes classiques offrent la simplicité et le faible coût, ce qui les rend incontournables dans de nombreux contextes, mais elles manquent de sensibilité – notamment la microscopie directe qui peut rater des infections à faible excrétion. Elles ne donnent pas non plus d'information au-delà de la présence du parasite (pas de distinction d'espèce, ni de charge quantifiée, etc.).

À l'inverse, les méthodes moléculaires (PCR et dérivés) apportent une sensibilité et spécificité excellentes, au point d'être la nouvelle référence dans les laboratoires bien équipés . La PCR permet en outre de génotyper le parasite, fournissant des données épidémiologiques précieuses (par exemple pour relier un cas humain à une source animale ou environnementale via la comparaison des souches). Cependant, ces méthodes restent onéreuses et techniques, ce qui limite leur déploiement universel (notamment dans des environnements à ressources limitées). Les perspectives d'innovation montrent une tendance à combiner le meilleur de ces deux mondes : des tests plus rapides et portables tout en maintenant une performance proche de la PCR. L'amplification isotherme couplée à des lectures sur bandelettes ou capteurs, l'intégration de CRISPR pour renforcer la spécificité, les biosenseurs microfluidiques automatisés – tout cela concourt vers le développement de tests réalisables au plus près du terrain sans sacrifier la fiabilité.

6.2. Applicabilité dans le contexte algérien (et contraintes)

Dans le contexte vétérinaire et médical algérien, plusieurs facteurs sont à considérer pour toute amélioration du diagnostic de la cryptosporidiose :

- Infrastructures et coûts : L'Algérie dispose de quelques laboratoires centraux bien équipés (Institut Pasteur, laboratoires universitaires), mais sur le terrain la situation est inégale. Introduire des nouveaux tests suppose d'assurer leur disponibilité dans les zones rurales et

de couvrir les coûts des consommables. Actuellement, les tests rapides disponibles (importés) sont surtout utilisés dans le secteur privé. Une démarche possible serait que les autorités de santé intègrent *Cryptosporidium* dans les programmes de surveillance officiels et subventionnent les outils diagnostiques correspondants. Par exemple, on pourrait imaginer un programme dans la filière bovine de surveillance des diarrhées néonatales subventionnant des kits rapides incluant *Cryptosporidium* aux côtés d'autres agents (Rotavirus, Coronavirus, E. coli K99...).

Des initiatives similaires ont existé dans d'autres pays, souvent appuyées par des laboratoires pharmaceutiques fournissant ensuite les traitements.

- Formation du personnel : Introduire la PCR ou la LAMP sur le terrain nécessite de former les utilisateurs pour éviter les erreurs (notamment les contaminations en biologie moléculaire). Dans un laboratoire central, le personnel maîtrise ces techniques, mais sur le terrain, sans encadrement strict, le risque de faux positifs (contamination d'amplicons) ou faux négatifs (échantillon mal préparé) existe. Une solution pourrait être de créer des unités mobiles gérées par du personnel formé (une sorte d'"équipe d'intervention épidémiologique") qui, en cas de suspicion d'épidémie (animale ou humaine), se déplaceraient avec un mini-labo (PCR portable ou LAMP) pour tester sur place. Cela éviterait de confier des tests complexes à du personnel non formé tout en apportant la capacité diagnostique au terrain.

- Acceptation et habitudes : Il faut aussi tenir compte des habitudes cliniques. Si les vétérinaires ou médecins ne pensent pas spontanément à *Cryptosporidium*, ils ne feront pas le test même s'il est disponible.

Une sensibilisation est nécessaire pour qu'en présence de diarrhées prolongées (chez l'enfant par ex.) ou de diarrhées néonatales en élevage, le réflexe de tester *Cryptosporidium* devienne systématique. Cela peut passer par des guides nationaux de pratique, des protocoles diagnostiques standard intégrant *Cryptosporidium*. Par exemple, un protocole type pourrait être : “enfant avec diarrhée >7 jours : réaliser un test de cryptosporidiose”. - Cadre réglementaire et collaboration One Health : Le concept “Une Seule Santé” s’applique ici : la cryptosporidiose étant zoonotique, il faudrait favoriser le partage des informations entre secteurs vétérinaire, médical et même l’hydrologie (contrôle de l’eau). Par exemple, si un laboratoire d’analyse d’eau détecte *Cryptosporidium* dans une source, en informer les autorités de santé humaine et vétérinaire locales pour qu’elles renforcent la surveillance de cas de diarrhées. Réciproquement, une hausse de cas humains devrait alerter sur un possible problème d’eau ou d’origine animale. Instituer ce genre d’échanges nécessite un cadre de surveillance intégrée.

6.3. Recommandations pour améliorer le diagnostic de la cryptosporidiose

Au vu de tout ce qui précède, quelles actions peut-on proposer ? Voici quelques recommandations clés pour la pratique et l’organisation du diagnostic

- **Combiner les approches classiques** : Dans les structures disposant seulement de la microscopie MZN, il serait utile d’adoindre un test rapide comme outil de triage. Par exemple, toute diarrhée suspecte pourrait être testée par un immunochromato rapide : si le test est positif (même microscopie négative), traiter le cas comme suspect de cryptosporidiose; si le test est négatif et microscopie négative, la crypto est très improbable. Cette combinaison améliorera la confiance dans le diagnostic négatif.

- **Renforcer la confirmation des cas graves** : Tout cas grave ou à enjeu (un enfant hospitalisé, un patient VIH avec diarrhée sévère, mortalité élevée de veaux dans un élevage) devrait bénéficier d’une confirmation par une méthode sensible – idéalement PCR. Si cette méthode n’est pas disponible localement, l’échantillon devrait être envoyé à un laboratoire de référence (quitte à recevoir le résultat après coup, ce qui au moins permettra de documenter l’événement). Cela aiderait à ne pas passer à côté d’un agent impliqué et à accumuler des données.

- Mettre en place des centres de référence régionaux : En Algérie, on pourrait désigner un ou deux laboratoires régionaux (par exemple à Tizi-Ouzou et Sidi Bel Abbès, ou d'autres endroits stratégiques) qui recevraient les échantillons vétérinaires et humains suspects pour analyse approfondie (PCR multiplex, génotypage). Cela mutualiseraient les ressources et concentrerait l'expertise. Un tel laboratoire "One Health" pourrait analyser aussi bien des prélèvements humains qu'animaux, améliorant l'efficacité globale.

- Introduire progressivement les innovations : Piloter des projets d'évaluation de tests LAMP portables ou de kits immuno-CRISPR dans quelques sites pilotes permettrait de juger de leur plus-value dans le contexte local. Par exemple, un partenariat avec un laboratoire étranger pour tester un prototype de LAMP sur le terrain en Algérie, ou participer à une étude multicentrique sur un nouveau test rapide amélioré. Cela préparerait le terrain à une adoption plus large si les résultats sont concluants.

- Sensibiliser et former : Organiser des formations courtes pour les techniciens de laboratoires d'analyses (publics et privés) sur la cryptosporidiose – comment la détecter, quels tests utiliser, quand la suspecter. De même, inclure un module sur *Cryptosporidium* dans la formation continue des vétérinaires et des médecins infectiologues/pédiatres. L'objectif est d'élever le niveau de vigilance. Des documents simples (poster, fiche mémo) pourraient être distribués dans les cliniques rappelant, par exemple, que *Cryptosporidium* est à rechercher chez un enfant avec diarrhée prolongée.

En résumé, améliorer le diagnostic des cryptosporidioses revient à mieux combattre ce parasite ubiquitaire. Ce combat n'est pas uniquement technologique : il est aussi organisationnel et éducatif. Il s'agit de faire en sorte que les outils existants soient utilisés à bon escient, que les outils nouveaux soient adoptés lorsqu'ils apportent un vrai gain, et que l'information circule entre tous les acteurs (médecins, vétérinaires, laboratoires, autorités de santé) dans une approche intégrée Une Seule Santé. Les connaissances synthétisées dans ce mémoire fournissent une base pour orienter ces actions : elles montrent où des gains peuvent être faits (sur la rapidité, la sensibilité), quels outils méritent d'être investis, et comment innover de manière pragmatique. Armés de ces informations, les professionnels de la santé vétérinaire et humaine pourront collaborer plus efficacement pour faire de *Cryptosporidium* un ennemi visible et vaincu grâce à un diagnostic éclairé, rapide et fiable.

Conclusion et perspectives

Cryptosporidiose, longtemps négligée dans les priorités sanitaires, s'impose aujourd'hui comme un parasite entérique majeur en santé humaine et animale. Ce mémoire a permis de dresser un état des lieux complet des méthodes de diagnostic disponibles, depuis les techniques classiques jusqu'aux innovations les plus récentes, et d'envisager leurs applications futures dans un cadre vétérinaire moderne.

Les méthodes classiques – telles que la microscopie (coloration Ziehl-Neelsen modifiée), l'immunofluorescence ou les tests ELISA – demeurent des outils accessibles, simples à mettre en œuvre, et utiles en première intention. Cependant, leur sensibilité limitée et leur dépendance à l'opérateur imposent souvent une confirmation par des techniques plus avancées.

À ce titre, les méthodes moléculaires (notamment la PCR et ses variantes) constituent une avancée majeure, offrant une haute sensibilité et la possibilité d'identification génotypique. Ces outils sont aujourd'hui des références dans les laboratoires bien équipés, mais restent encore peu disponibles dans les structures décentralisées.

Les innovations récentes ouvrent des perspectives prometteuses vers un diagnostic **rapide, portable et intégré**. Des techniques comme la LAMP, la RPA ou les systèmes basés sur CRISPR-Cas combinent sensibilité et simplicité d'utilisation. L'émergence de dispositifs *lab-on-chip*, de biosenseurs électrochimiques, ou encore l'utilisation de l'intelligence artificielle en microscopie automatisée, élargit les possibilités d'un diagnostic de terrain aussi fiable qu'en laboratoire.

Perspectives d'avenir

Plusieurs orientations concrètes émergent de ce travail :

- **Développement et validation locale de kits rapides** (LAMP, CRISPR) adaptés au contexte algérien.
- **Mise en place d'une surveillance intégrée** des diarrhées néonatales chez les ruminants incluant systématiquement *Cryptosporidium*.
- **Sensibilisation et formation continue** des vétérinaires et cliniciens à l'importance de ce parasite dans les syndromes diarrhéiques prolongés.

Renforcement de la recherche appliquée locale, notamment pour entraîner des modèles d'IA sur des images issues d'échantillons algériens.

Adoption d'une approche "One Health" renforcée, favorisant les échanges entre laboratoires vétérinaires, médicaux et de contrôle de l'eau pour une réponse concert.

Références bibliographiques :

1. Hijawi, N., Zahedi, A., & Ryan, U. (2023). Point-of-care diagnostics for *Cryptosporidium*: new and emerging technologies. *Current Opinion in Gastroenterology*, 39(1), 3–8.
2. Thomson, S., et al. (2024). Understanding the *Cryptosporidium* species and their challenges to animal health and livestock species. *Frontiers in Parasitology*, 3, Article 1448076.
3. Helmy, Y.A., & Hafez, H.M. (2022). *Cryptosporidiosis: From Prevention to Treatment, a Narrative Review*. *Microorganisms*, 10(12), 2456.
4. Widmer, K.W., Oshima, K.H., & Pillai, S.D. (2002). Identification of *Cryptosporidium parvum* oocysts by an artificial neural network approach. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(3), 1115–1121.
5. Roellig, D.M., et al. (2017). Community laboratory testing for *Cryptosporidium*: Multicenter study retesting RCA-positive samples with DFA. *PLoS ONE*, 12(1), e0169915.
6. Abdou, N.M.I., et al. (2022). Performance of diagnostic assays used to detect *Cryptosporidium* oocysts in faecal samples of cattle in Kuwait. *BMC Veterinary Research*, 18, 336.
7. CDC – DPDx (2019). Cryptosporidiosis: Diagnostic Procedures (Bench Aid). *Centers for Disease Control and Prevention*.
8. Chalmers, R.M., & Katzer, F. (2013). Looking for *Cryptosporidium*: the application of advances in detection and diagnosis. *Trends in Parasitology*, 29(5), 237–251.
9. Hall, C., et al. (2011). Evaluation of commercial assays for *Cryptosporidium* detection in stool samples. *Journal of Clinical Microbiology*, 49(5), 1845–1847.
10. Yoder, J.S., et al. (2012). Cryptosporidiosis surveillance — United States, 2009–2010. *MMWR Surveillance Summaries*, 61(5), 1–12.
11. Luka, G.S., et al. (2022). Comprehensive review of conventional and state-of-the-art detection methods of *Cryptosporidium*. *Journal of Hazardous Materials*, 421, 126714.
12. Ahmed, S.A., & Karanis, P. (2020). *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis: the African perspective. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(34), 42460–42474.

13. Fayer, R., et al. (2010). *Cryptosporidium* species in wildlife and domestic animals. *Experimental Parasitology*, 124(1), 121–126.
14. Thomson, S., et al. (2017). Infectivity of *Cryptosporidium parvum* in calves: Relationship between shedding, clinical signs and infection risk. *Veterinary Parasitology*, 245, 100–105.
15. Tzipori, S. (2008). [Référence sur l'historique de *Cryptosporidium*]. ... (inclus dans Helmy & Hafez, 2022).
16. Nguyen, N., et al. (2022). [Utilisation d'un modèle YOLO pour la détection d'oocystes]. (*Communication conférence IA 2022*).

Site internet:

www.academic.oup.com

www.mdpi.com

www.pubmed.com

www.cdc.gov

www.bmcvetres.biomedcentral.com

www.bmcvetres.biomedcentral.com
