

République Algérienne Démocratique et Populaire

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

École Nationale Supérieure Vétérinaire – Alger

المدرسة الوطنية العليا للبيطرة - الجزائر

Mémoire pour l'obtention du diplôme de
Magistère en Sciences Vétérinaires
Option : Élevage et Pathologie Avicole

Thème

Prévalence de l'infection à
Cryptosporidium spp. dans quelques
élevages de poulets de chair et de dindes
dans les régions de Boumerdes et Alger

Présenté par Goucem Rachid

Soutenu le :

Le jury :

- Président : Hamdi Taha Mossadek (Maître de Conférences)
- Promoteur : Ben Mahdi Meriem Hind (Professeur)
- Examineur : Khelef Djamel (Professeur)
- Examineur : Ait Oudhia Khatima (Maître de Conférences)

Année universitaire : 2012/2013

Remerciements

Je souhaite exprimer ma reconnaissance à toutes les personnes qui ont contribué à l'élaboration de ce travail.

Aux membres du jury :

- Mes remerciements vont tout d'abord à Melle Benmahdi MH pour sa patience. Je tiens à lui exprimer mes remerciements pour avoir accepté d'encadrer ce travail sur un si long terme.
- M. Hamdi TM, pour m'avoir accordé l'honneur de présider le jury. Qu'il reçoive ici l'expression de ma reconnaissance pour le grand intérêt qu'il a porté au sujet.
- Melle Ait Oudhia K, pour avoir accepté de consacrer un peu de son temps à juger notre travail.
- M. Khelef D, ma profonde gratitude pour l'honneur qu'il me fait en acceptant de participer au jury.

Sommaire

Remerciements	1
Sommaire	2
Résumés	6
Liste des tableaux	7
Liste des figures et photographies	8
Introduction	9
Première partie : étude bibliographique	11
1. Généralités	11
1.1. Historique et taxonomie	11
1.2. Classification	12
1.3. Espèces du genre <i>Cryptosporidium</i>	13
1.4. Espèces affectées et localisation	15
2. Pathogenèse et cycle de vie	17
3. Immunité	19
4. Spécificité d'hôte chez les oiseaux	19
4.1. Espèces de <i>Cryptosporidium</i> chez les oiseaux	20
4.2. Localisation dans l'organisme	21
5. Transmission	22
5.1. Transmission entre oiseaux et mammifères	22
5.2. Transmission à l'homme (risque zoonotique)	22
6. Caractères biologiques et morphologiques	23
6.1. Cycle évolutif	23
6.1.1. Excystation	24
6.1.2. Schizogonie	24
6.1.3. Gamogonie	25
6.2. Particularités du cycle évolutif de <i>C. baileyi</i>	25
6.3. Particularités du cycle évolutif de <i>C. meleagridis</i>	25
6.4. Particularités du cycle évolutif de <i>C. galli</i>	25
6.5. Relation entre parasite et cellule hôte	26
7. Morphologie des stades parasitaires	27
7.1. Oocystes	27
7.2. Sporozoïtes	28
7.3. Trophozoïtes	29
7.4. Mérontes	30
7.5. Mérozoïtes	30
7.6. Macrogamontes	31
7.7. Microgamontes	32
8. Symptômes liés à l'infestation cryptosporidienne chez l'oiseau	32
9. Lésions <i>post mortem</i>	32
10. Diagnostic	33
11. Traitement et contrôle	33
12. Prophylaxie	35
12.1. Prophylaxie médicale	35
12.2. Prophylaxie sanitaire	35
13. Epidémiologie	36
13.1. Répartition géographique	36
13.2. Sources de parasites	36
13.3. Mode de contamination	37

13.3.1. Contamination directe	37
13.3.2. Contamination indirecte	37
13.4. Voies de contamination	37
13.5. Facteurs favorisant la contamination	38
14. Résistance des cryptosporidies	38
14.1. Résistance aux agents physiques	38
14.2. Résistance aux agents chimiques	39
15. Réceptivité et sensibilité	39
15.1. Espèce hôte	39
15.2. Age	40
15.3. Statut immunitaire	40
15.4. Thérapeutiques	41
15.5. Espèce parasitaire et voie d'inoculation	41
15.6. Dose infectante	41
15.7. Conditions d'élevage	41
16. Pathogénie	42
16.1. Pathogénie des manifestations intestinales	42
16.2. Pathogénie de l'infection de la bourse de Fabricius	42
16.3. Pathogénie des manifestations respiratoires	43
17. Interactions avec les autres agents pathogènes	43
17.1. Bactéries	43
17.2. Virus	44
17.3. Champignons	44
17.4. Parasites	44
18. Immunité chez les oiseaux	44
18.1. Immunité humorale	44
18.2. Immunité cellulaire	44
19. Tableau clinique et lésionnel	45
19.1. Maladie respiratoire	45
19.2. Entérite	45
19.3. Proventricule	45
19.4. Atteinte rénale	46
20. La cryptosporidiose chez diverses espèces	46
20.1. Cryptosporidiose du poulet	46
20.2. Cryptosporidiose du dindon	46
21. Diagnostic	46
21.1. Diagnostic <i>ante mortem</i>	46
21.1.1. Concentration des oocystes	46
21.1.2. Coloration	47
21.1.2.1. Coloration de Ziehl-Nielsen modifiée	47
21.1.2.2. Coloration acide rapide de Kinyoun	47
21.1.2.3. Coloration de Heine	48
21.1.3. Technique de flottaison d'Anderson	48
21.1.4. Technique à l'auramine O	48
21.2. Diagnostic <i>post mortem</i>	48
21.2.1. Diagnostic histologique	48
21.2.2. Examen de raclage	49
Deuxième partie : étude expérimentale	50
1. Objectifs	50
2. Matériel et Méthodes	50

2.1. Matériels	50
2.1.1. Élevages	50
2.1.2. Matériel de laboratoire	52
2.1.2.1. Technique de Ritchie simplifiée	52
2.1.2.2. Coloration de Ziehl-Nielsen modifiée	53
2.1.2.3. Autres matériels	53
2.2. Méthodes	53
2.2.1. Échantillonnage	53
2.2.2. Protocole de prélèvement	54
2.2.3. Techniques utilisées pour la mise en évidence du parasite	54
2.2.3.1. A partir des fientes	54
2.2.3.2. A partir des organes	55
2.2.4. Description des techniques	56
2.2.4.1. Technique de Ritchie	56
2.2.4.2. Technique de Ziehl-Nielsen	57
2.2.5. Examen histopathologique	58
2.2.6. Mesure de l'oocyste	58
2.3. Analyses statistiques	59
3. Résultats	60
3.1. Prévalence globale de <i>Cryptosporidium</i> dans les élevages	60
3.2. Prévalence de <i>Cryptosporidium</i> par tranches d'âge	60
3.3. Variation de la prévalence en fonction des méthodes utilisées	61
3.4. Fréquence des localisations de <i>Cryptosporidium</i>	62
3.5. Fréquence des localisations en fonction de l'examen réalisé	62
3.6. Variation de la prévalence en fonction de la saison	63
3.7. Variation en fonction du type de bâtiment d'élevage	64
3.8. Variation en fonction de la région d'étude	64
3.9. Dimensions des oocystes	65
3.9.1. Chez le poulet	65
3.9.2. Chez la dinde	65
3.10. Lésions	66
3.10.1. Macroscopiques	66
3.10.2. Histologiques	68
4. Discussion	71
4.1. Méthode de prélèvement	71
4.1.1. Élevages	71
4.1.2. Prélèvements	71
4.2. Techniques de laboratoire utilisées	72
4.2.1. Technique de Ritchie	72
4.2.2. Coloration de Ziehl-Nielsen	72
4.3. Anato-pathologie et histologie	73
4.4. Dimension des oocystes	74
4.5. Discussion des résultats	74
4.5.1. Prévalence globale de l'infection dans les élevages	74
4.5.2. Prévalence par tranches d'âge	76
4.5.3. Variation en fonction des méthodes d'analyse	77
4.5.4. Fréquence des localisations de <i>Cryptosporidium</i>	78
4.5.5. Fréquence des localisations en fonction de la méthode d'analyse	79
4.5.6. Variation de la fréquence en fonction de la saison	80
4.5.7. Influence du type de bâtiment d'élevage	80

4.5.8. Région d'étude	81
4.5.9. Dimension des oocystes	81
4.5.9.1. Chez le poulet	81
4.5.9.2. Chez la dinde	82
4.5.10. Lésions macroscopiques	83
4.5.11. Lésions microscopiques	84
Conclusion	86
Références bibliographiques	88

Résumé

Une enquête est menée dans quelques élevages de poulets de chair et de dindes afin de rechercher la présence et déterminer la prévalence de l'infection à cryptosporidies, en fonction de paramètres zootechniques, cliniques et nécropsiques. Un total de 204 poulets et 93 dindes, issus de 21 élevages, est examiné en utilisant la technique de concentration de Ritchie simplifiée par Allen et Ridley suivie de la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz. Les résultats font apparaître une forte prévalence, aussi bien dans les deux types d'élevage, en moyenne 38,7% dans les élevages de poulets et 46,2% dans ceux de dindes. L'âge et les conditions d'élevage sont les deux facteurs de prédisposition les plus déterminants. Ces résultats justifient qu'une recherche systématique du parasite soit entreprise dans tous les cas de diarrhée rebelle aux thérapeutiques classiques.

Mots-clés : *Cryptosporidium*, poulet, dinde, prévalence, conditions d'élevage.

Abstract

An investigation is carried out in a few flocks of broilers and turkeys to check and determine the prevalence of Cryptosporidia infection, depending on zootechnical, clinical and autopsy settings. A total of 204 chickens and 93 turkeys, from 21 farms, are examined using the Ritchie concentration technique simplified by Allen and Ridley followed by Ziehl-Neelsen staining modified by Henriksen and Pohlenz. The results showed a high prevalence, as well in both types of livestock, averaged 38.7% in chicken farms and 46.2% in those of turkeys. The age and rearing conditions are the two most important predisposing factors. These results justify that a systematic search of the parasite is undertaken in all cases of diarrhea rebellious to classic therapeutics.

Keywords : *Cryptosporidium*, chicken, turkey, prevalence, rearing conditions.

ملخص

مسح مزارع قليلة هي الفروج والديك الرومي للكشف عن وجود وتحديد مدى انتشار عدوى خفية الأبواغ، اعتمادا على معلمات تربية الحيوانات والسريرية والتشريح. يتم فحص ما مجموعه 204 و الدجاج الرومي 93 من 21 مزارع، وذلك Pohlenz تعديلها من قبل هنريكسن و Neelsen باستخدام تقنية تركيز ريتشي مبسطة من قبل ألين وريدلي تليها تسيل وأظهرت النتائج ارتفاع معدل انتشار في كل من هذين النوعين من الماشية، على 38.7 في المائة في المتوسط 46.2% والدجاج في تلك الديوك الرومية. عمر وظروف تربية هي العوامل المهيمنة هما أكثر. ويجري تبرير هذه النتائج بحث منهجي لطيفلي في جميع حالات الإسهال الحرارية إلى العلاجات التقليدية

كلمات البحث: الكريبتوسبورديوم والدجاج والديك الرومي، وانتشار، وظروف التربية

Liste des tableaux

Tableau 1 : Taxonomie et classification de <i>Cryptosporidium</i> spp.	13
Tableau 2 : Espèces de <i>Cryptosporidium</i> , dimensions et hôtes majeurs	16
Tableau 3 : Prévalence de la cryptosporidiose dans les élevages	60
Tableau 4 : Prévalence de l'infection en fonction de l'âge	60
Tableau 5 : Présence de cryptosporidies révélée par les différentes analyses	61
Tableau 6 : Fréquence des localisations des cryptosporidies	62
Tableau 7 : Variation de la localisation en fonction du type d'examen	62
Tableau 8 : Variation de la prévalence au cours de l'année	63
Tableau 9 : Type de bâtiment et prévalence de l'infection cryptosporidienne	64
Tableau 10 : Variation de la prévalence en fonction de la région d'étude	64
Tableau 11 : Mesure des oocystes et espèce correspondante chez le poulet	65
Tableau 12 : Mesure des oocystes et espèces suspectées chez la dinde	66

Liste des figures et photographies

Figure 1 : Cycle de vie des cryptosporidies	18
Figure 2 : Cycle évolutif de <i>Cryptosporidium</i> spp.	23
Figure 3 : Différents stades évolutifs vus en microscopie électronique	27
Figure 4 : Oocyste sporulé à paroi épaisse, contenant quatre sporozoïtes	28
Figure 5 : Oocyste en microscopie électronique	28
Figure 6 : Sporozoïte en microscopie électronique	29
Figure 7 : Trophozoïte en microscopie électronique	29
Figure 8 : Méronte de type I en microscopie électronique	30
Figure 9 : Mérozoïte en microscopie électronique	31
Figure 10 : Macrogamonte en microscopie électronique	31
Figure 11 : Microgamonte renfermant les microgamètes	32
Figure 12 : Variation de la prévalence en fonction de l'âge des animaux	61
Photo 1 : Vue extérieure d'une serre utilisée en élevage avicole	51
Photo 2 : Dindonneaux sous éleveuses à la première semaine	51
Photo 3 : Enlèvement des gardes à la troisième semaine	52
Photo 4 : Cheptel de dindes en fin d'élevage	52
Photo 5 : Oocystes de <i>Cryptosporidium</i> en microscopie optique	55
Photo 6 : Oocystes de <i>Cryptosporidium</i> colorés par la technique de Ziehl-Neelsen	58
Photo 7 : Cryptosporidies colorées par la méthode de Ziehl-Neelsen	65
Photo 8 : Entérite et distension intestinale	68
Photo 9 : Entérite et typhlite chez la dinde	68
Photo 10 : Caeca de dinde remplis de liquide mousseux	69
Photo 11 : Villosités atrophiques et infiltration lymphoïde de l'iléon	69
Photo 12 : Cryptosporidies et infiltration de la bourse de Fabricius	70

Introduction

La cryptosporidiose est une maladie parasitaire due à un protozoaire du genre *Cryptosporidium*, appartenant au phylum des *Apicomplexa* (Goodwin, 1989). C'est un parasite ubiquiste, monoxène, colonisant essentiellement les épithéliums digestifs, mais aussi respiratoires, biliaires et urinaires (Papadopoulou *et al.*, 1988). Les organismes du genre *Cryptosporidium* sont des protozoaires entéroparasites ayant la capacité de parasiter un grand nombre de vertébrés appartenant aux classes des poissons, reptiles, oiseaux et mammifères, dont l'homme (O'Donoghue, 1985, Lindsay *et al.*, 2000). Les oocystes hébergeant les sporozoïtes infectants sont éliminés avec les selles des hôtes infectés, contaminent l'environnement où ils gardent leur pouvoir infectieux pendant longtemps, résistant aux désinfectants usuels. Par ailleurs, étant immédiatement infectieux après leur excrétion, ils peuvent être transmis directement par contact.

Cet organisme est décrit pour la première fois en 1907 dans la muqueuse gastrique de souris (Tyzzer, 1907). Par la suite, ces parasites ont été détectés lors d'infections naturelles chez 170 espèces de vertébrés, et cela dans plus de 50 pays différents situés en zones tropicales tout comme en zones tempérées (O'Donoghue, 1995).

La cryptosporidiose aviaire peut se manifester par l'une des trois principales formes cliniques, intestinale, respiratoire ou rénale. Cependant, une seule de ces formes cliniques s'exprime généralement durant l'affection (Blagburn *et al.*, 1991). Trois espèces différentes de *Cryptosporidium* ont été identifiées chez les espèces aviaires, sur la base de différences biologiques et génétiques : *Cryptosporidium baileyi*, *Cryptosporidium meleagridis* et *Cryptosporidium galli* (Xiao *et al.*, 2004). *C. baileyi* est le plus souvent associé à des troubles respiratoires, caractérisés cliniquement par des râles, de la toux, de la dyspnée et des étternuements (Goodwin *et al.*, 1988).

Chez les oiseaux, après contamination oro-fécale ou respiratoire, les parasites colonisent essentiellement l'épithélium des muqueuses digestive et respiratoire. La maladie se caractérise alors par des troubles digestifs (entérite, diarrhée) ou respiratoires (toux, dyspnée, sinusite).

La cryptosporidiose aviaire est décrite pour la première fois par Tyzzer en 1929 et ce n'est qu'un demi-siècle après que la maladie est observée et rapportée dans la bourse de Fabricius de poulets par Fletcher *et al.* (1975).

Chez les poulets, dindes et cailles, ce sont des parasites pathogènes primaires qui peuvent provoquer une atteinte respiratoire et/ou intestinale, à l'origine de morbidité et de mortalité (Current, 1986). De plus, l'infection à *Cryptosporidium* constitue un problème dont

l'importance économique inquiète de façon croissante l'industrie avicole dans plusieurs parties du monde. Les problèmes économiques engendrés par l'infection sont une haute morbidité et une faible mortalité mais qui peut s'aggraver lors de concomitance avec d'autres affections telles que maladie de Gumboro, Marek ou coccidioses notamment.

Les problèmes sanitaires sont liés au rôle de *C. meleagridis*, génotype zoonotique, concernant principalement le dindon mais aussi l'homme puisqu'il est considéré comme l'un des plus pathogènes pour ce dernier. Il n'existe pas de traitement spécifique en médecine vétérinaire. Certaines molécules anticoccidiennes ont cependant réussi à retarder le développement du parasite sans le détruire (Naciri *et al.*, 1999).

L'impact sanitaire et économique de l'infection par *Cryptosporidium* sur la filière avicole en Algérie est méconnu, peu d'études ayant été menées jusqu'à présent sur ce sujet malgré l'importance qui lui est accordée par la plupart des auteurs.

En Algérie, il existe une importante population de volailles domestiques : environ 200 millions. Les données concernant la cryptosporidiose sont disponibles pour l'homme et les ruminants, mais pas pour les volailles. Il était donc intéressant d'entreprendre une enquête dans le but de préciser la prévalence, sinon de la maladie, du moins de l'infection par les cryptosporidies afin de cerner l'importance de cette parasitose et de dégager quelques données sur les risques d'infection d'origine animale chez l'Homme.

Les interrogations relatives à la cryptosporidiose concernent son existence dans les élevages de volailles en Algérie, dont la réponse peut être appréhendée comme positive, mais aussi sa prévalence, les espèces affectées, les types d'élevage les plus touchés et les facteurs favorisant l'infection. L'arrêt de l'utilisation des anticoccidiens comme additifs a probablement une incidence sur sa fréquence, mais aucune étude ne le démontre de manière incontestable.

Les objectifs de cette étude sont la recherche de *Cryptosporidium* chez le poulet de chair et la dinde, l'estimation de sa prévalence dans les élevages objets de l'enquête en fonction de paramètres qui peuvent sembler *a priori* jouer un rôle dans le développement de l'infection, dans deux modes d'élevage utilisés dans le pays : l'élevage en bâtiment classique et l'élevage sous serre, de plus en plus répandu.

Première partie : étude bibliographique

1. Généralités

1.1. Historique

En 1895, Clarke observe ce qui peut être une espèce de *Cryptosporidium* chez la souris et décrit un essaim de spores se trouvant sur l'épithélium gastrique, qu'il considère comme un commensal bénin. En 1907, Tyzzer décrit pour la première fois *Cryptosporidium muris*, un parasite extracellulaire observé sur des coupes histologiques de glandes gastriques de souris. En 1912, il observe chez ce même animal une espèce plus petite, au développement confiné à l'épithélium de l'intestin grêle, qu'il nomme *Cryptosporidium parvum* (Tyzzer, 1912). Il s'agit bien d'espèces distinctes car les oocystes sont de forme et taille différentes. En plus, *C. muris* est localisé au niveau des glandes gastriques alors que *C. parvum* est localisé dans l'épithélium intestinal (Guyot *et al.*, 2001). Tyzzer décrit aussi des stades sexués et asexués chez le parasite, ainsi qu'un attachement aux cellules épithéliales gastriques de l'hôte par le biais d'une organelle spécialisée. Il détaille alors les caractéristiques permettant d'établir un nouveau genre de sporozoaires apparenté aux Coccidies : *Cryptosporidium* (Tyzzer, 1910). Bien que Tyzzer, sans microscopie électronique, n'ait pu observer la localisation précise de *Cryptosporidium*, il a conclu que le parasite, qu'il pensait localisé en dehors de la cellule hôte, se nourrissait de cette dernière grâce à l'organe d'adhésion. Il a fallu attendre les études utilisant la microscopie électronique en 1978 pour que l'existence des oocystes soit confirmée (Pohlenz *et al.*, 1978). La détection d'oocystes dans les selles est alors devenue la méthode principale de diagnostic de la cryptosporidiose.

Chez la volaille, la cryptosporidiose fut décrite pour la première fois en 1929 (Tyzzer, 1929) et ce n'est qu'après un demi-siècle que la maladie est observée et rapportée au niveau des bourses de Fabricius de poulets (Fletcher *et al.*, 1975).

En 1955, Slavin découvre l'importance pathogénique du genre : *Cryptosporidium meleagridis* est associé à une maladie clinique provoquant diarrhée et faible mortalité chez la dinde. Le parasite est cependant resté ignoré ou considéré comme un organisme commensal jusqu'à sa reconnaissance par les vétérinaires dans les années 70 où il fut tenu pour responsable d'épidémies de diarrhées parfois mortelles dans les élevages des jeunes veaux (Pancieria *et al.*, 1971 ; Pohlenz *et al.*, 1978 ; Angus, 1983). En effet, on retrouve le genre *Cryptosporidium* dans l'intestin de veaux diarrhéiques, ce qui confirme le rôle pathogène potentiel du parasite. En 1986, une nouvelle espèce, *C. baileyi*, colonisant la bourse de Fabricius et l'appareil

respiratoire des poulets, est décrite par Current *et al.* Les stades de développement de la plupart des parasites ont été trouvés dans les microvillosités des entérocytes de l'iléon et, plus tardivement, dans les entérocytes du cloaque et de la bourse de Fabricius.

En 1999 enfin, *C. galli* est décrit dans le proventricule de la poule par Pavlasek. Les oocystes sont structurellement similaires à ceux de *Cryptosporidium baileyi*, mais en plus d'être beaucoup plus grands que ceux de *C. baileyi*, ces oocystes infectent le proventricule et non pas les voies respiratoires. Les oocystes sont transmis avec succès des poulets aux poulets, et sont également observés dans une grande variété d'oiseaux exotiques et sauvages (ordre des Passériformes, Phasianidae, Fringillidés et Ictéridés). Des analyses moléculaires et phylogénétiques de l'ARNr 18S, HSP70, et loci de gènes d'actine démontrent que cette espèce est génétiquement distincte de toutes les espèces connues et génotypes de *Cryptosporidium* et, par conséquent, a été nommé *C. galli*.

1.2. Classification

Même si le genre *Cryptosporidium* est maintenant bien reconnu par les scientifiques, la taxonomie du parasite au sein de ce genre soulève encore de nombreuses discussions. La classification des cryptosporidies, établie par Levine (1985), encore utilisée de nos jours, est présentée dans le tableau 1.

Les organismes du genre *Cryptosporidium* sont des eucaryotes unicellulaires appartenant au groupe monophylétique des alvéolés (Morrison, 2009). Les alvéolés, dont la plupart appartiennent aux sous-groupes des ciliés, dinophytes et apicomplexes, possèdent tous des vésicules sous-membranaires appelées alvéoles (Gould *et al.* 2008). Ils ont des modes de nutrition très divers, allant de la photo-autotrophie à la prédation, au parasitisme intracellulaire et à la mixotrophie (Gould *et al.*, 2008). En effet, les apicomplexes, dont font partie les différentes espèces de *Cryptosporidium*, comprennent des parasites obligatoires pour la plupart des cellules animales (Gould *et al.*, 2008). Plusieurs apicomplexes sont pathogènes pour les humains et les animaux domestiques, engendrant par exemple la malaria, la toxoplasmose et la coccidiose (Adl *et al.*, 2005). Étant donné la difficulté à différencier les apicomplexes sur la base de leur morphologie, ces derniers ont été définis en quatre groupes distincts (coccidies, grégarines, haemosporidiens et piroplamides), à partir de caractéristiques phénotypiques telles que l'association à leurs hôtes ou vecteurs et leurs sites d'infection. Aujourd'hui, cette classification utilitaire n'est plus considérée représentative des relations évolutives existant entre les différents organismes du groupe des apicomplexes (Morrison, 2009). Plus de 300 genres dans plus d'une soixantaine de familles ont été reconnus sur la base

d'analyses phylogénétiques faites principalement à partir des séquences de nucléotides du gène ARNr 18S (Morrison, 2009). Il n'existe toujours pas de phylogénie intégrant à la fois les caractères phénotypiques et génotypiques (Morrison, 2009).

La famille des *Cryptosporidiidae* ne renferme que le genre *Cryptosporidium* et se caractérise, parmi les autres coccidies, à la fois par l'absence du stade sporocyste et de spécificité vis-à-vis de l'hôte, par des microgamètes aflagellés et par un développement juste au-dessous de la membrane superficielle de la cellule, dans une vacuole parasitophore, avec une localisation intracellulaire mais extracytoplasmique (Gjerde, 1986).

Tableau 1 : Taxonomie et classification de *Cryptosporidium* spp. (O'Donoghue, 1995)

Classification	Nom	Caractéristiques biologiques
Phylum	<i>Apicomplexa</i>	Présence d'un complexe apical. Toutes les espèces sont parasites
Classe	<i>Sporozoasida</i>	Reproduction asexuée et sexuée, avec formation d'oocystes
Sous-classe	<i>Coccidiasina</i>	Cycle de développement comprenant une ou plusieurs mérogonies, gamétogonie et sporogonie
Ordre	<i>Eucoccidiorida</i>	Mérogonie présente chez les vertébrés
Sous-ordre	<i>Eimeriorina</i>	Développement indépendant de la microgamie et de la macrogamie
Famille	<i>Cryptosporidiidae</i>	Cycle homoxène. Développement du parasite sous la membrane de la cellule hôte. Microgamètes sans flagelles. Sporogonie chez l'hôte
Genre	<i>Cryptosporidium</i>	Absence de sporocystes. L'oocyste renferme 4 sporozoïtes nus

1.3. Espèces du genre *Cryptosporidium*

La taxonomie du genre n'est toujours ni complètement établie ni acceptée par l'ensemble des chercheurs, et le nombre exact d'espèces qui le composent n'est toujours pas clairement établi. *C. parvum*, une espèce commune et peu spécifique, a longtemps été considérée comme l'unique espèce responsable de la cryptosporidiose chez l'homme et chez les autres mammifères (Fayer et Xiao, 2008). Or, on sait aujourd'hui qu'il existe plusieurs espèces différentes, voire génotypes, pouvant engendrer la pathologie chez l'homme et les animaux. Ce n'est qu'au début des années 80 que la cryptosporidiose a fait une bruyante émergence en pathologie humaine après l'apparition du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA) qui lui a conféré un regain d'actualité. La cryptosporidiose cause principalement des problèmes diarrhéiques pouvant entraîner la mort chez des hôtes généralement immunodéficients.

Après la découverte initiale de *Cryptosporidium*, plus de 50 ans se sont écoulés pendant lesquels le parasite était généralement confondu avec d'autres genres d'*Apicomplexa*, particulièrement les membres du genre coccidien *Sarcocystis*. Parce que beaucoup d'espèces de *Sarcocystis* ont des oocystes avec des parois minces qui rompent souvent, excréant des sporocystes libres et que chaque sporocyste contient quatre sporozoïtes, comme *Cryptosporidium*, une variété d'espèces a été faussement assignée à ce genre (Anderson *et al.*, 1968 ; Bearup, 1954 ; Dubey et Pande, 1963 ; Duszynski, 1969). Des études ultrastructurales ultérieures, cependant, ont appuyé des études de microscopie précédentes et ont réaffirmé les étapes endogènes de *Cryptosporidium* qui possède une organelle unique (Hampton et Rosario, 1966 ; Jervis *et al.*, 1966 ; Vetterling, 1971). Cette organelle, plutôt que l'oocyste, est la caractéristique clé qui définit actuellement le genre et la famille (Upton, 2000), mais cela a en réalité été un composant intégral de la définition taxonomique de la famille depuis au moins 1961 (Levine, 1961, 1980, 1985).

Après la reconnaissance de vraies différences entre *Cryptosporidium* et *Sarcocystis*, le faux concept de spécificité d'hôte strict (Pellerdy, 1965) a été appliqué à *Cryptosporidium* spp. Cela a mené à la création de nouvelles espèces incluant *C. agni* chez le mouton, *C. anserinum* chez l'oie, *C. bovis* chez le veau, *C. cuniculus* chez le lapin, *C. garnhami* chez l'homme et *C. rhesi* chez le singe (Barker, 1974 ; Bird, 1981 ; Inman et Takeuchi, 1979 ; Levine, 1980 ; Proctor et Kemp, 1974). Des études de transmission ont démontré que des cryptosporidies isolées d'animaux différents peuvent fréquemment être transmises d'une espèce à une autre, ce qui a conduit à nommer l'espèce en se basant sur l'hôte d'origine et l'introduction de beaucoup d'entre les nouvelles espèces de *Cryptosporidium* comme étant *C. parvum*. Cependant, pendant une période brève, des études de transmission très limitées ont été utilisées comme la preuve de la nature mono-spécifique du genre *Cryptosporidium*, aboutissant à l'utilisation répandue du nom *C. parvum* pour les parasites de toutes les sortes de mammifères, y compris l'homme. Plusieurs *Cryptosporidium* nommés pendant ou avant cette période, comme *C. meleagridis* chez la dinde (Slavin, 1955), *C. wrairi* chez le cochon d'Inde (Vetterling *et al.*, 1971) et *C. felis* chez le chat (Iseki, 1979), ont cependant réchappé à cause des différences biologiques démontrées vis-à-vis des espèces *C. parvum* et *C. muris*. Plus récemment, plusieurs autres *Cryptosporidium* ont aussi été nommés, comme *C. baileyi* chez les oiseaux (Current *et al.*, 1986) et *C. saurophilum* chez les lézards (Plutzer et Karanis, 2007), tous basés sur des différences biologiques avec les autres espèces de *Cryptosporidium*. En 2010, Traversa met en évidence une nouvelle espèce de *Cryptosporidium* infectant les tortues, qu'il appelle *Cryptosporidium ducismarci* (Traversa, 2010).

Cependant, cette non-spécificité d'hôte n'est clairement démontrée que chez les mammifères et n'existerait pas de façon aussi nette dans d'autres classes de vertébrés, ainsi qu'entre celles-ci. En effet, le passage de cryptosporidies issues d'oiseaux aux mammifères, et vice-versa, s'avère très difficile et généralement les essais se soldent par des échecs. De plus, les différences de taille et de site de développement ont finalement conduit à admettre que le genre *Cryptosporidium* renferme plusieurs espèces. En 2008, le genre *Cryptosporidium* comportait 18 espèces dont plus de 40 génotypes différents (Xiao et Ryan, 2008) avant que Power et Ryan (2008) décrivent *Cryptosporidium macropodum*, une nouvelle espèce, chez le kangourou gris (*Macropus giganteus*) et Una *et al.* (2008) *Cryptosporidium fayeri* chez le kangourou roux (*Macropus rufus*). *Cryptosporidium ryanae* et *Cryptosporidium xiaoi* (Fayer et Santín, 2009) ont aussi été décrits, ainsi que d'autres espèces dénommées *Cryptosporidium deer-like*. *Cryptosporidium ubiquitum*, enfin, est retrouvé chez l'animal et l'homme (Fayer *et al.*, 2010).

Bien que plus de 20 espèces de ces parasites aient été décrits sur la base de l'animal-hôte chez lequel 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, il existe 22 espèces validées (tableau 2) : *C. hominis* trouvé principalement chez l'homme (antérieurement connu comme *C. parvum* de type 1), *C. parvum* trouvé chez l'homme et d'autres mammifères (antérieurement connu comme *C. parvum* de type 2), *C. andersoni* et *C. bovis* chez les bovins, *C. canis* chez le chien, *C. muris* chez la souris, *C. felis* chez le chat, *C. wrairi* chez le cobaye, *C. suis* chez le porc, *C. fayeri* chez le kangourou rouge, *C. macropodum* chez le kangourou gris, *C. meleagridis* chez la dinde et l'homme, *C. baileyi* chez le poulet, *C. galli* chez la poule adulte et certains oiseaux sauvages, *C. varanii* chez les varans émeraudes, *C. serpentis* chez les serpents et lézards et *C. molnari* chez le poisson. Chez les animaux de production, *C. parvum*, *C. andersoni*, *C. baileyi* et *C. meleagridis* ont été enregistrés comme agents de morbidité et de foyers de maladie.

1.4. Espèces affectées et localisation

Bien que l'on ait proposé de nombreux noms d'espèces en fonction de l'identité de l'hôte, la plupart des isolats de *Cryptosporidium* de mammifères, y compris les isolats humains, sont similaires à *C. parvum* tel que décrit par Tyzzer (1912). Vingt deux espèces sont actuellement reconnues (Egyed *et al.*, 2003 ; Thompson *et al.*, 2007 ; Xiao *et al.*, 2004 ; Fayer *et al.*, 2008 ;

Jirku *et al.*, 2008 ; Power et Ryan, 2008 ; Ryan *et al.*, 2008). Les principales espèces de cryptosporidies observées jusqu'à présent, dont certaines non validées par l'International Code of Zoological Nomenclature (Xiao *et al.*, 2004), sont décrites dans le tableau 2, ainsi que leurs dimensions et les hôtes habituels chez lesquels elles sont retrouvées.

Tableau 2 : Espèces de *Cryptosporidium*, dimensions et hôtes majeurs (Šlapeta, 2009)

Espèce	Dimensions oocyste (µm)	Hôte principal	Lieu de l'infection
<i>C. andersoni</i>	7,4 x 5,5	Bovin	Estomac
<i>C. baileyi</i>	6,3 x 5,2	Poulet	Trachée, BF, cloaque
<i>C. bovis</i>	4,9 x 4,6	Bovin	Intestin
<i>C. canis</i>	4,8 x 7,2	Chien	Intestin grêle
<i>P. cichlidis</i> *	4,0 x 3,5	Poisson	Estomac
<i>C. cuniculus</i>	5,9 x 5,3	Lapin	Intestin
<i>C. fayeri</i>	4,9 x 4,3	Kangourou	Intestin
<i>C. felis</i>	4,6 x 4,0	Chat	Intestin grêle
<i>C. fragile</i>	6,2 x 5,5	Crapaud	Estomac
<i>C. galli</i>	8,3 x 6,3	Poulet	Proventricule
<i>C. hominis</i>	4,9 x 5,2	Humain	Intestin
<i>C. macropodum</i>	4,9 x 5,4	Kangourou	Intestin
<i>C. meleagridis</i>	5,0 x 4,4	Dinde, humain	Intestin
<i>C. molnari</i>	4,7 x 4,5	Dorade	Estomac
<i>C. muris</i>	8,4 x 6,2	Souris	Estomac
<i>C. nasorum</i>	4,3 x 3,3	Poisson	Intestin
<i>C. parvum</i>	4,9 x 4,4	Bovin, humain	Intestin grêle
<i>C. pestis</i>	5,0 x 4,5	Bovin	Intestins
<i>P. reichenbachklinkei</i> *	2,4 x 3,2	Poisson	Estomac
<i>C. ryanae</i>	3,7 x 3,1	Bovin	Intestin
<i>C. saurophilum</i>	5,0 x 4,7	Lézard	Intestin, cloaque
<i>C. scophthalmi</i>	4,4 x 3,9	Poisson	Intestin
<i>C. serpentis</i>	6,2 x 5,3	Reptile	Estomac
<i>C. struthionis</i>	-	Autruche	Caecum
<i>C. suis</i>	4,6 x 4,2	Sanglier	Intestin grêle
<i>C. ubiquitum</i>	5,0 x 4,6	Mammifères	-
<i>C. viatorum</i>	-	Humain	Intestin
<i>C. wrairi</i>	5,4 x 4,6	Cochon d'inde	Intestin grêle
<i>C. xiaoi</i>	3,9 x 3,4	Ovin	-

*Le genre *Piscicryptosporidium* a été érigé par Paperna et Vilenken (1996) par opposition à celui de *Cryptosporidium*. Deux espèces ont été incluses dans la description, *P. reichenbachklinkei* et *P. cichlidaris* (Paperna et Vilenken, 1996). Ces espèces ont, à l'origine, été publiées comme *Cryptosporidium reichenbachklinkei* et *Cryptosporidium cichlidaris* (Jirku *et al.*, 2008), avec le commentaire que le genre était considéré comme un synonyme de *Cryptosporidium*.

On considère que certains des 40 génotypes de *Cryptosporidium* habituellement décrits pourraient représenter des espèces différentes. La classification actuelle des génotypes de *Cryptosporidium* serait donc sujette à modifications.

2. Pathogenèse et cycle de vie

Le cycle de vie de *Cryptosporidium* comporte de multiples étapes semblables à celles des coccidies entériques. Il se déroule chez un seul hôte et comporte six grandes étapes (figure 1) :

- 1- Le dékystement (ou excystation) au cours duquel les sporozoïtes sont libérés d'un oocyste enkysté ;
- 2- La schizogonie (ou mérogonie) au cours de laquelle se produit la reproduction asexuée ;
- 3- La gamétogonie au cours de laquelle se forment les gamètes ;
- 4- La fécondation du macrogamétocyte par un microgamète pour former un zygote ;
- 5- La formation des parois de l'oocyste ;
- 6- La sporogonie au cours de laquelle se forment les sporozoïtes dans l'oocyste (Current, 1986).

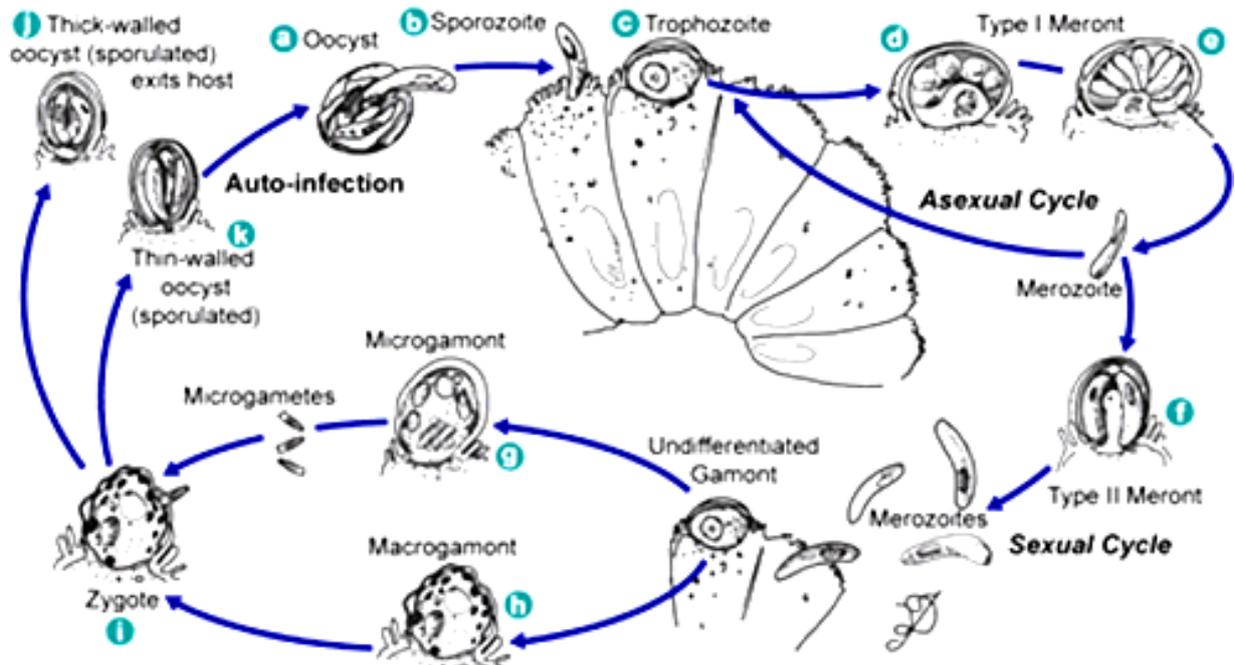


Figure 1 : Cycle de vie des cryptosporidies (CDC, 2009)

Cryptosporidium nécessite un hôte pour la survie et la reproduction (Mansfield et Gajadhar, 2004 ; Kim *et al.*, 2005). Toutes les espèces de *Cryptosporidium* subissent un développement endogène qui aboutit à la production d'un stade enkysté relargué dans les excréments de leur hôte (Fayer *et al.*, 2000). *Cryptosporidium* a un cycle complexe, comprenant les étapes de reproduction sexuée et asexuée (Smith *et al.*, 2007 ; Thompson *et al.*, 2007). Après ingestion, l'excystation d'oocystes viables se produit : 4 à 6 µm pour l'espèce intestinale, légèrement plus grands pour l'espèce gastrique. Les sporozoites contiennent des organites apicaux (rhoptries, micronèmes et granules denses), chacun avec des structures distinctes et les fonctions nécessaires à l'invasion de la cellule hôte (Blackman et Bannister, 2001). Les granules denses sécrètent leur contenu sur la surface du zoïte et stimulent la modification de la cellule hôte pendant l'invasion (Blackman et Bannister, 2001 ; Huang *et al.*, 2004). La décharge apicale des protéines de rhoptries et micronèmes fournissent des sites d'ancrage pour l'adhérence à la cellule hôte. Un effet cytopathique direct n'a pas été observé (Blackman et Bannister, 2001). Les mécanismes de la pénétration de la cellule hôte et de l'inclusion sont encore mal compris. Toutefois, *Cryptosporidium* est connu pour avoir la possibilité de réarrangement de la membrane cellulaire hôte à l'aide de facteurs actine-polymérase (Elliot et Clark, 2000) et susceptible d'être induite par le parasite (Sibley, 2004). Le parasite se niche dans une vacuole parasitophore, qui est connectée à la cellule hôte par une membrane (Tzipori et Ward, 2002). Là, il est protégé contre l'environnement hostile intestinal et il est approvisionné par la cellule

hôte en énergie et nutriments par le biais d'un organite chargeur, qui est unique parmi les *Apicomplexa* (Tzipori et Ward, 2002). D'autres étapes sont décrites chez *Cryptosporidium andersoni* et *C. parvum*, qui subissent la multiplication par le biais d'un processus de reproduction sexué impliquant la fusion bout à bout de deux ou plusieurs parasites (Hijjawi *et al.*, 2002 ; Rosales *et al.*, 2005). Si ce processus est avéré et vérifié par des études plus étendues, celui-ci aurait des implications majeures de notre compréhension de la biologie de *Cryptosporidium*, sa génétique et sa transmission. Bien que *Cryptosporidium* ait été largement étudié au cours des dernières décennies, peu de choses sont connues sur les interactions hôte-pathogène. L'apoptose de la cellule hôte pourrait être influencée par des stades parasitaires intra et extracellulaires, avec inhibition ou promotion, indiquant un dérèglement de l'expression génétique de la cellule (Mele *et al.*, 2004).

3. Immunité

L'exposition des antigènes de sporozoïtes déclenche une réponse immunitaire chez les mammifères immunocompétents (Riggs, 2002 ; Singh *et al.*, 2005). Les défenses immunitaires sont représentées par les anticorps et les cellules T (Riggs, 2002 ; Singh *et al.*, 2005). Une excrétion élevée d'interleukines et de l'interféron gamma (IFN γ) a été observée au cours des étapes initiales de l'infection (Riggs, 2002 ; Singh *et al.*, 2005). Robinson *et al.* (2001) ont montré une réponse muqueuse IFN γ -indépendante, par des niveaux accrus d'IL-15, suggérant l'activation de la réponse immunitaire innée.

4. Spécificité d'hôte chez les oiseaux

La classification taxonomique de *Cryptosporidium* est illustrée dans le tableau 1. Un *Cryptosporidium* de poulet a été décrit par Tyzzer (1929), qui a trouvé le parasite dans l'épithélium caecal. Le parasite fut nommé *C. muris* car il ressemblait morphologiquement à sa description antérieure de *Cryptosporidium* dans l'épithélium gastrique des souris de laboratoire. Levine (1961) a changé le nom du parasite aviaire en *C. tyzzeri* pour désigner la description originale de Tyzzer, mais plus tard le même Levine (1984) changea de nouveau le nom en *C. meleagridis* après le rapport par Slavin (1955) de cryptosporidiose chez les dindons. La relation entre *C. meleagridis* et *C. muris* reste à déterminer (Levine, 1985). Les organismes isolés de la bourse de Fabricius de poulets ont été nommés *C. baileyi* (Current *et al.*, 1986). Parce que les oocystes de *C. baileyi* sont plus grands que les oocystes de *C. meleagridis* et que *C. baileyi* n'infecte pas la caille, on a pensé qu'au moins trois espèces de

Cryptosporidium infectent les oiseaux (Current *et al.*, 1986), ce qui s'est avéré exact avec la découverte de *C. galli*.

Les cryptosporidies sont détectées chez plus de 30 espèces d'oiseaux appartenant aux ordres Ansériformes, Charadriiformes, Colombiformes, Galliformes, Passeriformes, Psittaciformes et Struthioniformes (Goodwin *et al.*, 1981 ; Tsai *et al.*, 1983 ; Glisson *et al.*, 1984 ; Lindsay *et al.*, 1991).

4.1. Espèces de *Cryptosporidium* chez les oiseaux

C. meleagridis est décrit pour la première fois chez la dinde (*Meleagris gallopavo*) par Slavin (1955), et ensuite détecté chez beaucoup d'espèces aviaires et mammifères (Morgan *et al.*, 2000 ; Abe et Iseki, 2004 ; Hajdusek *et al.*, 2004 ; Pagès-Manté *et al.*, 2007 ; Ryan et Xiao, 2008). Il est décrit chez de nombreuses espèces aviaires comprenant la dinde, le perroquet, la poule, le cocktail et la perdrix à pieds rouges (O'Donoghue *et al.*, 1987 ; Morgan *et al.*, 2000 ; Sréter et Varga, 2000 ; Darabus et Olariu, 2003 ; Abe et Iseki, 2004 ; Huber *et al.*, 2007 ; Pagès-Manté *et al.*, 2007 ; Soltane *et al.*, 2007).

C'est la troisième espèce en prévalence qui infecte l'homme (Chalmers *et al.*, 2002 ; Leoni *et al.*, 2006). Des sous-types de *C. meleagridis* sont rapportés chez l'homme et les oiseaux, fondés sur l'analyse des gènes de l'ARNr (Glaberman *et al.*, 2001).

Cryptosporidium baileyi, décrit chez les poulets par Current *et al.* (1986), est l'espèce la plus commune rapportée dans la vaste diversité des espèces aviaires, à l'exception du colin de Virginie. C'est un petit parasite qui se développe dans les microvillosités de la bordure en brosse des cellules épithéliales (Current et Blackburn, 1990). La plupart des espèces aviaires sont susceptibles (Lindsay et Blackburn, 1990). Les sites de prédilection incluent le cloaque, la bourse de Fabricius (Current *et al.*, 1986) et le tractus respiratoire (Dhillon *et al.*, 1981), provoquant parfois de la diarrhée (Gorham *et al.*, 1987). La résistance à l'infection dépend de l'âge des oiseaux et de l'immunité acquise (Current *et al.*, 1986 ; Lindsay *et al.*, 1988), principalement induite par les stades asexués du parasite : sporozoïtes et mérozoïtes (Mead *et al.*, 1988)

C. galli, retrouvé dans le proventricule des poules par Pavlásek (1999, 2001) est décrit ensuite avec des données moléculaires par Ryan *et al.* (2003). C'était probablement l'espèce découverte dans le proventricule du pinson par Blagburn *et al.* (1990) et nommée *C. blagburni* (Morgan *et al.*, 2000). L'analyse d'ARNr de *C. galli* et de *C. blagburni* montre qu'il s'agit bien de la même espèce (Ryan *et al.*, 2003). Des infections naturelles par *C. galli* sont rapportées chez le pinson, le poulet, la caille, le gros-bec de pin, le perroquet, le flamant, le

cardinal capuchonné rouge et le hornbill de rhinocéros (Pavlásek, 1999 et 2001 ; Ryan *et al.*, 2003 ; Ng *et al.*, 2006).

Quatre autres génotypes aviaires (I à IV) sont décrits chez plusieurs espèces d'oiseaux, en se basant sur l'analyse de l'ARNr (Ng *et al.*, 2006 ; Merieles *et al.*, 2006). Quatre génotypes sont également décrits chez l'oie du Canada (Xiao *et al.*, 2002 ; Zhou *et al.*, 2004 ; Jellison *et al.*, 2004). Un génotype est décrit chez la bécasse des bois (Ryan *et al.*, 2003 ; Ng *et al.*, 2006).

D'après Ryan (2010), il existerait actuellement dix génotypes de *Cryptosporidium* aviaires. Les premières études d'identification des nouveaux génotypes de *Cryptosporidium* chez les oiseaux ont été menées chez les canards noirs et les bernaches du Canada. Ces oiseaux présentaient une affection intestinale. Cependant, le diagnostic génétique n'était pas compatible avec l'une des espèces de *Cryptosporidium* précédemment décrites chez les oiseaux infectés. Ainsi, les nouveaux *Cryptosporidium* sont nommés génotype canard et génotypes oie I, II, III et IV.

Un nouveau génotype a aussi été identifié chez la bécasse eurasiennne (Morgan *et al.*, 2001 ; Ryan *et al.*, 2003 ; Jellison *et al.*, 2004).

Une étude de la cryptosporidiose chez l'autruche a démontré que même si l'agent causal présente des oocystes semblables à ceux de *C. meleagridis*, celui-ci n'est pas capable d'infecter d'autres espèces d'oiseaux tels que les poulets, dindes et cailles (Meireles *et al.*, 2006). Cette nouvelle cryptosporidie a été nommée génotype autruche ou génotype II.

Une autre étude par Ng *et al.* (2006) identifie trois autres génotypes de *Cryptosporidium* (génotypes I, III et IV) qui infectent les oiseaux en captivité. En outre, deux espèces de *Cryptosporidium* qui normalement infectent les mammifères, *Cryptosporidium muris* et *Cryptosporidium andersoni*, sont identifiées chez la bernache du Canada (Graczyk *et al.*, 1996). *C. hominis* et *C. parvum* sont également décrits chez les oiseaux mais leur impact est mal connu. Zhou *et al.* (2004), Graczyk et Cranfield (1998) et Nakamura *et al.* (2009) retrouvent *Cryptosporidium parvum* chez les oiseaux sauvages, et concluent que, en plus de l'augmentation de la diversité génétique des espèces hôtes aviaires de *Cryptosporidium*, ceux-ci propagent l'infection en excréant des oocystes dans l'environnement.

4.2. Localisation dans l'organisme

Chez les oiseaux, la cryptosporidiose se manifeste principalement sous deux formes cliniques, respiratoire (Maçon et Hartley, 1980 ; Dhillon *et al.*, 1994) et intestinale (Doster *et al.*, 1979 ; Goodwin et Krabill, 1989 ; Lindsay *et al.*, 1990). Des études prouvent qu'elle peut également se manifester en tant que maladie rénale et peut même être mortelle (Latimer *et al.*, 1992).

Dans la forme respiratoire chez les oiseaux, le parasite peut infecter le naso-pharynx, les sinus, le larynx, la trachée, les bronches, les poumons, les sacs aériens et la conjonctive (Sréter et Varga, 1999). D'autre part, dans la forme digestive, *Cryptosporidium baileyi* est retrouvé dans les glandes salivaires et œsophagiennes, le proventricule, l'intestin, le caecum, le colon, le cloaque et la bourse de Fabricius (Xiao *et al.*, 2004).

5. Transmission

5.1. Transmission entre oiseaux et mammifères

Les études expérimentales de transmission montrent que *C. meleagridis* peut infecter le poulet de chair, le canard, la dinde, le veau, le porc, le lapin, le rat et la souris (O'Donoghue, 1995 ; Akiyoshi *et al.*, 2003 ; Darabus et Olariu, 2003 ; Huang *et al.*, 2003). De façon générale, le taux d'infectiosité et de virulence de *C. meleagridis* pour les mammifères est semblable à celui de *C. parvum* (Akiyoshi *et al.*, 2002). Une infection naturelle par *C. meleagridis* est rapportée chez un chien en République Tchèque (Hajdusek *et al.*, 2004).

La transmission expérimentale de *C. baileyi* à des oiseaux (caille japonaise, canard domestique, oie, faisan, perdrix chukar et dinde) est suivie d'infection et parfois de symptômes, excepté chez le colin de Virginie (Current *et al.*, 1986 ; Lindsay *et al.*, 1987, 1989 ; Lindsay et Blagburn, 1990 ; Cardozo *et al.*, 2005).

5.2. Transmission à l'homme (risque zoonotique)

Bien que l'infection cryptosporidienne chez les espèces aviaires ne présente pas une menace vis-à-vis des humains, excepté avec *C. meleagridis*, les études de transmission prouvant que ces espèces de *Cryptosporidium* sont spécifiques pour leurs hôtes (Lindsay *et al.*, 1986 ; O'Donoghue *et al.*, 1987 ; Graczyk et Cranfield, 1998), les oiseaux peuvent cependant agir en tant que vecteurs mécaniques de certaines cryptosporidies et peuvent en rejeter des oocystes dans les eaux de surface, barrages et étangs (Howe *et al.*, 2002).

Parmi les trois espèces de *Cryptosporidium* aviaires (*meleagridis*, *baileyi* et *galli*), seule *C. meleagridis*, qui infecte dindes et perroquets, est une menace zoonotique connue (Graczyk *et al.*, 1996 ; Awad el Kariem *et al.*, 1997).

6. Caractères biologiques et morphologiques

6.1. Cycle évolutif

Le cycle évolutif de *Cryptosporidium*, schématisé dans la figure 2 établie par Smith *et al.* (2007), possède quelques particularités, décrites plus loin, qui les distinguent des autres membres des *Apicomplexa*, en particulier les coccidies.

D'après Current (1986), 80% des oocystes ont une paroi épaisse et sont éliminés dans les selles, et 20% ont une paroi fine facilitant l'excystation dans la lumière intestinale et sont responsables du pouvoir d'auto-infection du parasite.

Cette possibilité d'auto-infection, ainsi que le recyclage des mérontes de première génération, jouent un rôle crucial dans la pathogénie de l'infection chez les sujets immunodéficients. Ils expliquent, en effet, pourquoi ces derniers peuvent avoir une maladie persistante en l'absence de réinfection orale et pourquoi, dans les infections massives, des sites extra-intestinaux (appareil respiratoire, canaux biliaires, etc.) sont également infectés.

Contrairement aux coccidies, l'excystation peut avoir lieu en l'absence de sels biliaires et d'enzymes pancréatiques, notamment la trypsine (Tzipori, 1983 ; Fayer *et al.*, 1984 ; Reducker *et al.*, 1985). Tel phénomène est expliqué par le fait que cet enzyme est responsable de la dégradation du corps de Stieda du sporocyste chez le genre *Eimeria* permettant ainsi la libération des sporozoites (Current, 1989).

Il est à noter que le stade sporocyste est inexistant chez le genre *Cryptosporidium*. L'incubation des oocystes dans de l'eau à 37°C et à pH 7,6 (Tzipori, 1988), ainsi que le stress hypotonique (Fayer *et al.*, 1984) ont été suggérés comme des mécanismes possibles intervenant dans le désenkystement.

Le cycle de vie de *Cryptosporidium* diffère donc de celui d'*Eimeria*. Les étapes intracellulaires sont limitées à la région microvillaire de la cellule hôte et les oocystes, qui sporulent dans les cellules de l'hôte, sont relargués dans les selles. Deux types d'oocystes sont formés, à paroi mince ou épaisse. L'oocyste à paroi mince se rompt et déverse des sporozoites qui peuvent pénétrer les cellules adjacentes et réinitialiser l'infection. Les oocystes à paroi épaisse passent dans les selles et peuvent transmettre l'infection à d'autres hôtes. En outre, *Cryptosporidium* peut envahir l'épithélium de la muqueuse d'une variété de tissus, y compris les intestins, les voies respiratoires, le cloaque, le proventricule et la bourse de Fabricius.

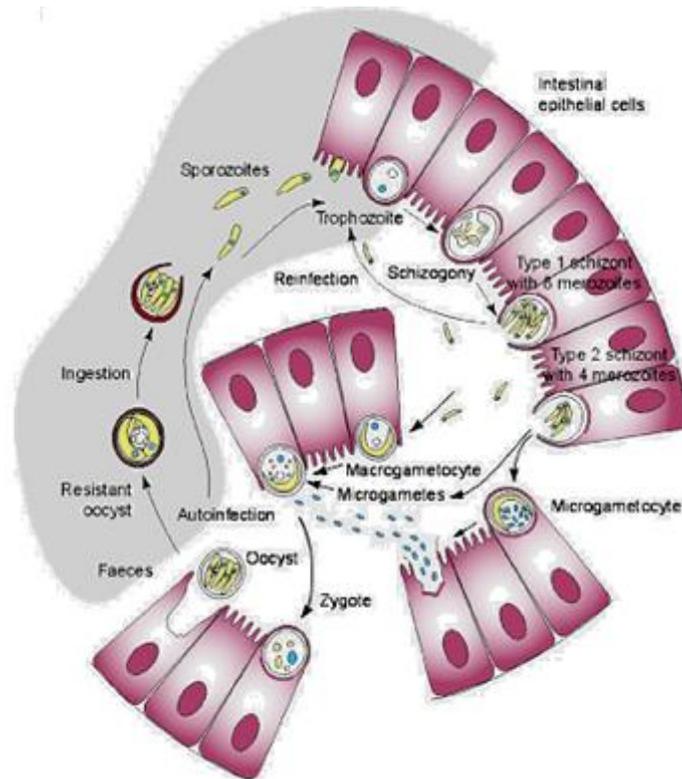


Figure 2 : Cycle évolutif de *Cryptosporidium* spp. (Smith *et al.*, 2007)

Toutes les phases du cycle monoxène se produisent chez l'hôte :

- Excystation ou sortie active des sporozoïtes de l'oocyste,
- Schizogonie ou mérogonie (multiplication asexuée),
- Gamogonie ou développement sexué,
- Sporogonie, aboutissant à la formation d'oocystes sporulés, rejetés avec les fèces dans le milieu extérieur, directement infectants pour le poulet ou pour toute autre espèce d'oiseau.

6.1.1. Excystation

Les oocystes ingérés ou inhalés excystent, libérant les sporozoïtes qui vont envahir les cellules épithéliales de l'appareil respiratoire ou de l'intestin.

6.1.2. Schizogonie

Le sporozoïte dans la cellule épithéliale se différencie en un trophozoïte facilement reconnaissable par son unique gros noyau proéminent. Puis, par divisions nucléaires, le parasite se multiplie, donnant naissance à un schizonte de première génération qui renferme 8 mérozoïtes. Ces mérozoïtes I se fixent à des entérocytes voisins et initient une deuxième

génération de schizontes ou redonnent des schizontes I. Ce recyclage des mérozoïtes de première génération est une des particularités du cycle de *Cryptosporidium*.

Les schizontes II matures renferment 4 mérozoïtes. Ces mérozoïtes II vont initier la gamogonie ou développement sexué.

6.1.3. Gamogonie

Les microgamontes ou gamontes mâles produisent 16 microgamètes non flagellés qui entourent un gros résiduum homogène attaché à la base de la vacuole parasitophore. Des microgamètes peuvent être observés, attachés à la membrane de la cellule hôte, couvrant un macrogamète.

Les macrogamètes ou gamètes femelles se transforment après pénétration d'un microgamète. Après fécondation, le cytoplasme devient granuleux et un gros globule central apparaît. Le zygote donne naissance à deux types d'oocystes qui sporulent avant d'être émis dans la lumière intestinale, contrairement aux *Eimeria*. Deux types d'oocystes sont formés :

- Quelques-uns (20%) ont une membrane fine qui se rompt facilement, libérant les sporozoïtes qui réinfectent alors de nouvelles cellules. La présence de ces oocystes auto-infectants à membrane fine et le recyclage des mérozoïtes I peuvent expliquer les infections intestinales qui durent jusqu'à 21 jours.
- La plupart ont une membrane épaisse et passent, sporulés, non altérés, dans les fèces. De forme ovoïde, l'oocyste constitue la forme de résistance et de dissémination du parasite.

6.2. Particularités du cycle évolutif de *C. baileyi*

Le cycle de *C. baileyi* possède un troisième type de mérozoïtes à 8 mérozoïtes qui vont initier la gamogonie. Ceux-ci sont de petite taille et beaucoup moins mobiles que les mérozoïtes I.

6.3. Particularités du cycle évolutif de *C. meleagridis*

L'oocyste non sporulé, libre dans la lumière intestinale, sporule dans les fientes de dindons infectés naturellement ou expérimentalement (Lindsay *et al.*, 1989).

6.4. Particularités du cycle évolutif de *C. galli*

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

6.5. Relation entre parasite et cellule hôte

Les stades évolutifs des cryptosporidies (figure 3) se localisent dans la bordure en brosse des cellules épithéliales de l'hôte. La position intracellulaire mais extra-cytoplasmique n'est plus guère discutée et s'explique par l'étude de l'attachement du sporozoïte à la cellule hôte.

Le parasite se développe dans une vacuole parasitophore délimitée par une enveloppe. Cette vacuole dérive directement des microvillosités cellulaires comme l'atteste son mode de formation. De plus, l'existence d'un glycocalyx, similaire en surface de l'enveloppe parasitophore et des villosités, confirme cette hypothèse (Itakura *et al.*, 1985 ; Marcial et Madara, 1986).

Le contact étroit entre la cellule hôte et le parasite apparaît en microscopie électronique sous forme d'une bande électro-dense, de structure périodique, et d'une zone de fusion (collier électro-dense). Une bande fibreuse est généralement visible à proximité de cette zone de contact (Fayer *et al.*, 1990).

A la base de l'organisme infectieux, on peut observer une structure lamellaire formée par des replis de la membrane parasitaire. Cette structure augmente la surface de contact entre le parasite et la cellule parasitée, favorisant les échanges. Cet organe, assurant vraisemblablement la fonction de nutrition du parasite (bien que cette hypothèse n'ait jamais été vérifiée), est nommé organe de nutrition (Fayer *et al.*, 1990).

Les mérozoïtes pleinement formés, ainsi que les corps résiduels des microgamétocytes et des microgamètes matures, se séparent parfois de l'organe de nutrition généralement attaché au parasite (trophozoïte, corps résiduel des mérontes) (Fayer *et al.*, 1990).

Des sporozoïtes ont également été retrouvés plus profondément dans le cytoplasme de cellules M des plaques de Peyer sur des cobayes et dans des macrophages sous-jacents (Marcial et Madara, 1986). De même, chez l'oiseau, des cryptosporidies sont observées à plusieurs reprises phagocytées par des macrophages, suggérant un rôle de la phagocytose comme moyen de défense de l'organisme (Gardiner *et al.*, 1988 ; Nakamura et Abe, 1988).

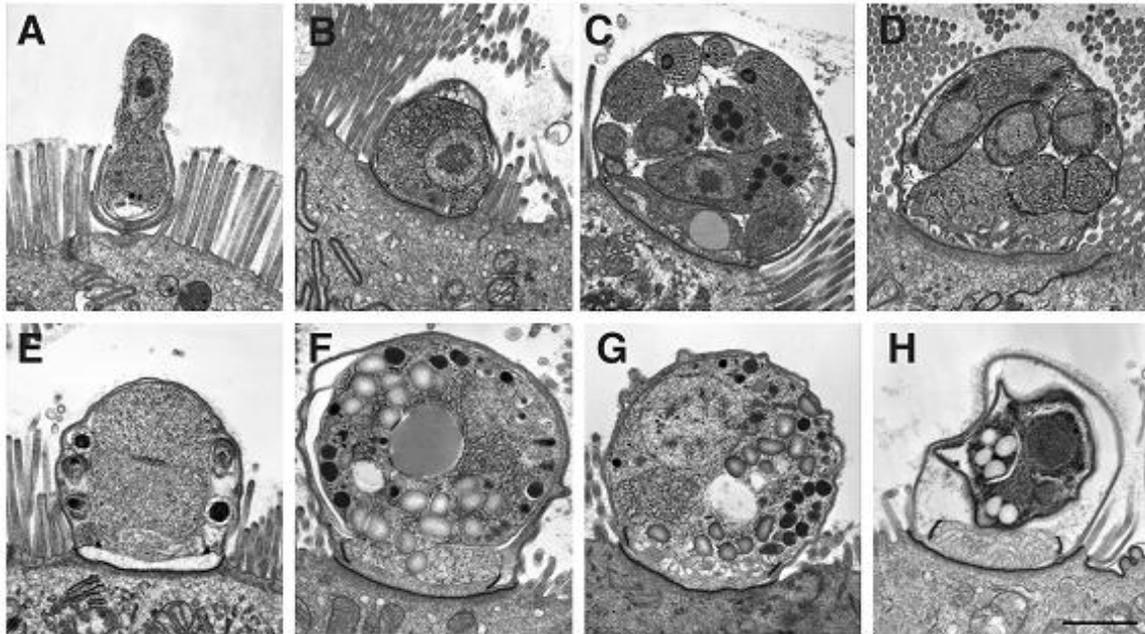


Figure 3 : Différents stades évolutifs vus en microscopie électronique (Fayer *et al.*, 1986)

- A : Trophozoïte qui commence à être entouré de sa membrane parasitophore
- B : Trophozoïte
- C : Méronte de type I avec 8 mérozoïtes prêts à être libérés dans la lumière intestinale
- D : Méronte de type II avec 4 mérozoïtes
- E : Microgamonte
- F : Macrogamonte
- G : Zygote
- H : Oocyste.

7. Morphologie des stades parasitaires

La microscopie électronique permet de différencier les stades et de préciser les caractères morphologiques de *Cryptosporidium* (figure 3).

7.1. Oocystes

Parmi les *Apicomplexa*, les oocystes de *Cryptosporidium* sont les plus petits. Ils sont sphériques à ovoïdes et contiennent quatre sporozoïtes libres (absence de sporocystes) agencés autour d'un corps résiduel mesurant un micron de diamètre. Le micropyle et les granules polaires, qui caractérisent les coccidies, ne sont pas retrouvés (Reese *et al.*, 1982 ; Uni *et al.*, 1987). La paroi est lisse, composée de deux membranes séparées par un espace clair et contient une suture qui se dissout durant l'excystation (figures 4 et 5).

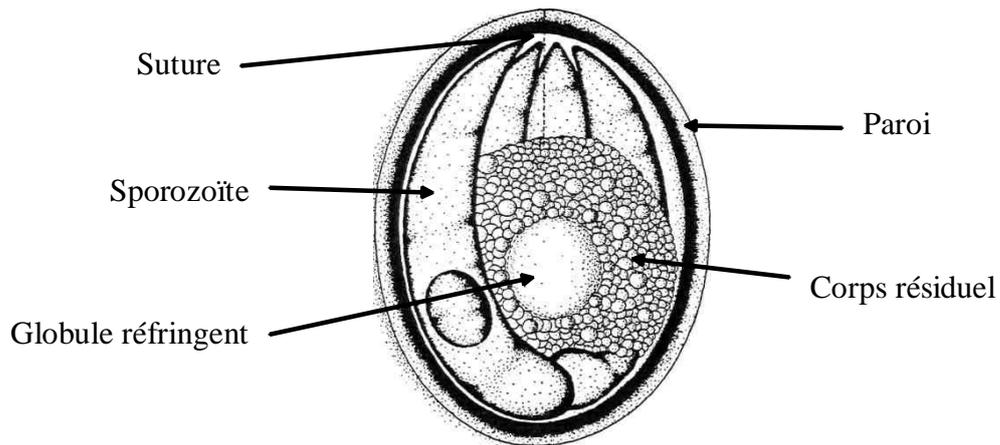


Figure 4 : Oocyste sporulé à paroi épaisse, contenant quatre sporozoïtes (Current *et al.*, 1986)

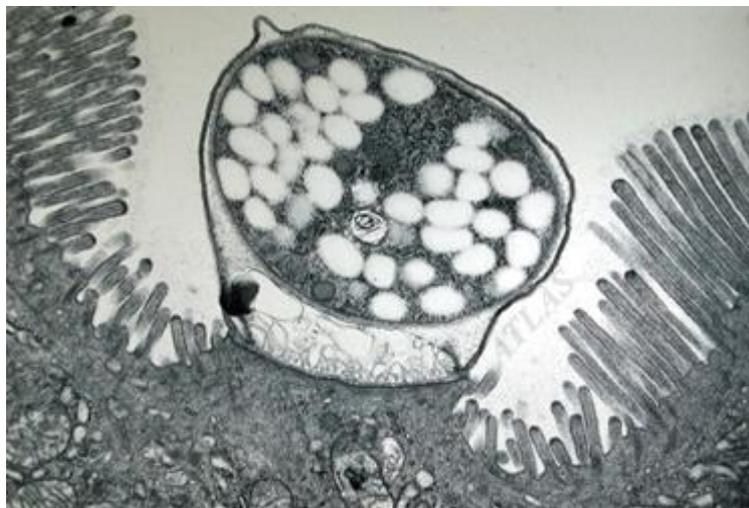


Figure 5 : Oocyste en microscopie électronique (Jae-Ran Yu, 2003)

7.2. Sporozoïtes

Ils sont en forme de croissant, avec une partie antérieure grêle et une partie postérieure arrondie, et renferment un noyau proéminent au niveau du tiers postérieur (figure 6). Douze microtubules sub-pelliculaires sont observés sur des sections transversales (Fayer *et al.*, 1986 ; Uni *et al.*, 1987).



Figure 6 : Sporozoïte en microscopie électronique (Šlapeta et Keithly, 2004)

7.3. Trophozoïtes

Ils sont caractérisés par un grand noyau (1-1,3 μ) contenant un gros nucléole, par la présence d'un organite de nutrition bien développé et par l'absence du complexe apical qui caractérise les sporozoïtes et les mérozoïtes (figure 7) (Fayer *et al.*, 1986 ; Uni *et al.*, 1987).

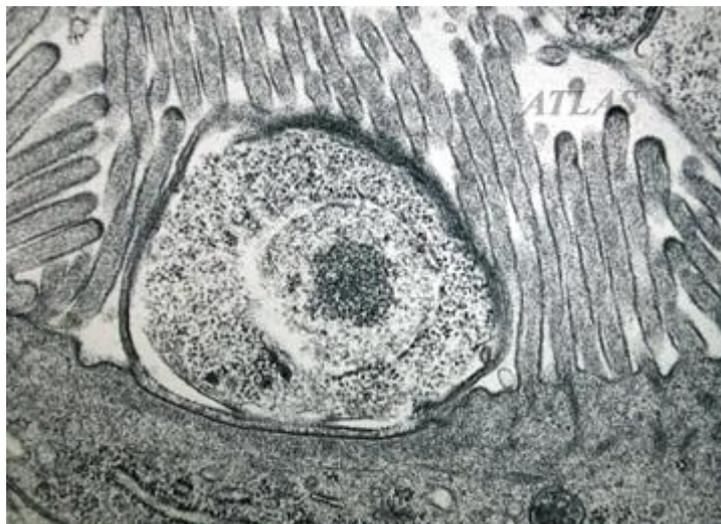


Figure 7 : Trophozoïte en microscopie électronique (Jae-Ran Yu, 2003)

7.4. Mérontes

Au fur et à mesure de sa maturation, le trophozoïte s'arrondit pour se transformer en méronte (figure 8). Les mérontes de type I (et de type II chez *Cryptosporidium baileyi*) contiennent 8 mérozoïtes disposés autour d'un corps résiduel dans lequel le noyau est souvent peu visible. Les mérontes de type II renferment 4 mérozoïtes (Chermette et Boufassa-Ouzrout, 1988 ; Fayer *et al.*, 1990).

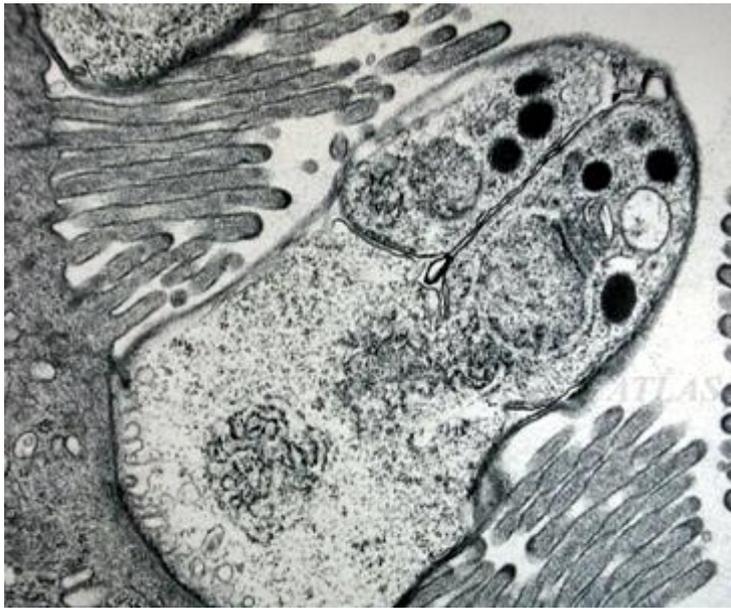


Figure 8 : Méronte de type I en microscopie électronique (Jae-Ran Yu, 2003)

7.5. Mérozoïtes

Dans le méronte, les mérozoïtes sont attachés par une de leurs extrémités au corps résiduel, remplissant la même fonction que les sporozoïtes (figure 9). Leur structure est très semblable, avec le même complexe apical. Des différences de mobilité sont signalées entre les différentes générations de mérozoïtes. Les mérozoïtes de type I s'avèrent les plus mobiles, ils parcourent plus de 4 fois leur longueur en moins de 2 secondes (Current *et al.*, 1986).

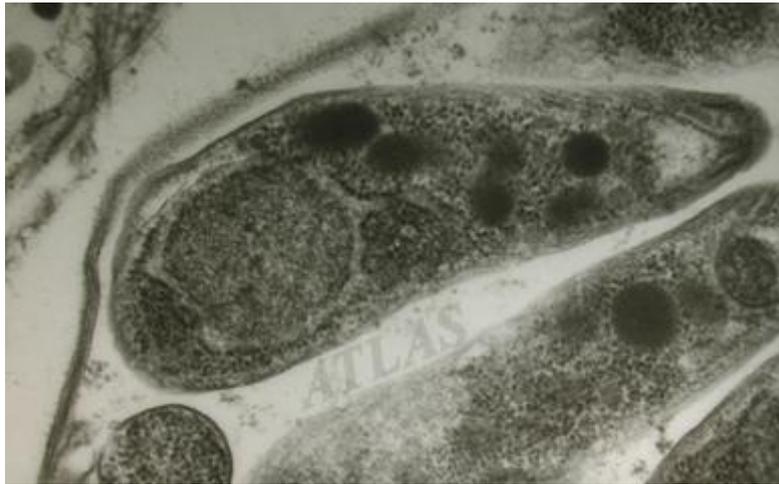


Figure 9 : Mérozoïte en microscopie électronique (Jae-Ran Yu, 2003)

7.6. Macrogamontes

Ils sont caractérisés par la présence de granules d'amylopectine qui les différencient des trophozoïtes (figure 10) et par la présence d'une vacuole et d'un grand noyau excentrique (Fayer *et al.*, 1986).



Figure 10 : Macrogamonte en microscopie électronique ((Jae-Ran Yu, 2003)

7.7. Microgamontes

Ils sont rarement observés à cause probablement de leur vie brève (figure 11). Ils renferment 14 à 16 microgamètes aflagellés et un corps résiduel (Tzipori, 1988).

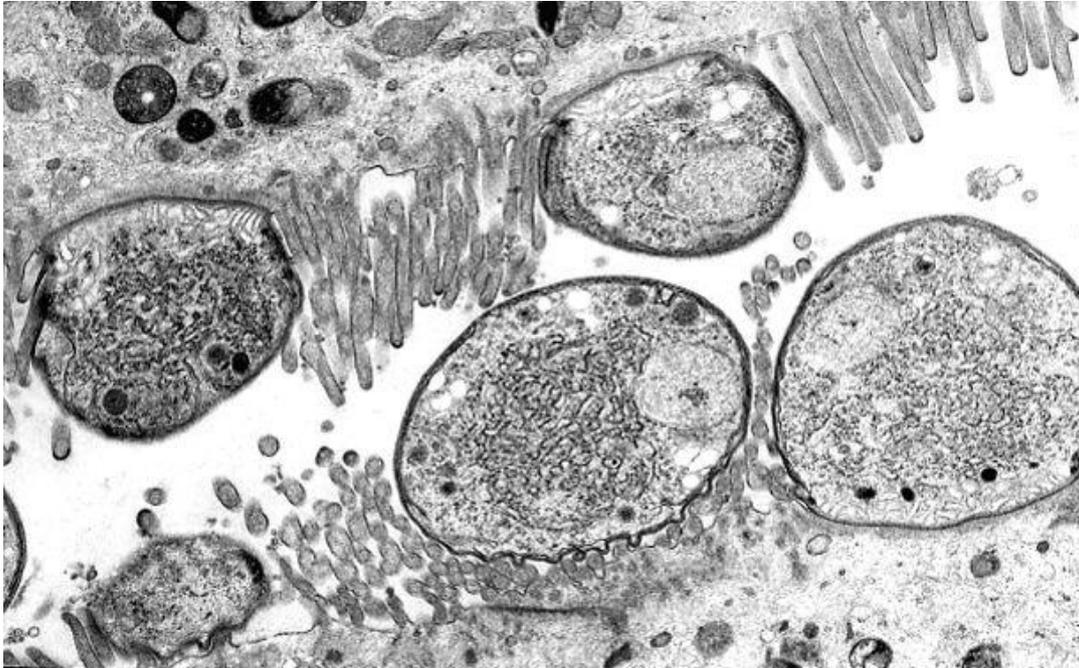


Figure 11 : Microgamonte renfermant les microgamètes (Fayer *et al.*, 1986)

8. Symptômes liés à l'infestation cryptosporidienne chez l'oiseau

La cryptosporidiose chez le poulet provoque essentiellement une maladie respiratoire. Elle est commune chez les oiseaux immunodéprimés et souvent rencontrée lors d'infections virales.

Après une période d'incubation de 3 à 5 jours, les signes respiratoires sont représentés par des difficultés respiratoires, avec bouche ouverte, éternuements et ronflement. La distension des sinus est parfois observée.

Les signes intestinaux incluent diarrhée, diminution de gain de poids et de conversion alimentaire.

La morbidité peut atteindre 40% et la mortalité 10% avec la maladie respiratoire.

9. Lésions *post mortem*

Dans la forme respiratoire, les muqueuses de la trachée et les sinus présentent un exsudat mousseux. La pneumonie est parfois observée, les alvéoles contenant un mucus épais.

Dans la forme intestinale, il y a épaissement de la muqueuse de l'intestin grêle moyen et terminal, qui devient pâle et distendue, avec un fluide mucoïde et des gaz donnant un aspect bulleux au contenu intestinal.

10. Diagnostic

Les signes cliniques et lésions macroscopiques et la démonstration des étapes du cycle de vie associés aux lésions dans les tissus sont des éléments peu évocateurs. Ils simulent aussi bien une coccidiose intestinale, une mycose ou, pour la forme respiratoire, une affection virale ou bactérienne.

Les symptômes et lésions rencontrés dans les infections par *Cryptosporidium* spp. ne sont pas suffisamment spécifiques pour permettre de porter un diagnostic clinique différentiel valable. Il est donc nécessaire que celui-ci soit parasitologique ou biologique. Différentes techniques de coloration permettent de détecter *Cryptosporidium* spp. à partir des différents prélèvements. Néanmoins, la technique de référence est la coloration de Zielh-Neelsen modifiée, sur frottis obtenus directement ou après des techniques de concentration (Henriksen et Pohlenz, 1981). Les cryptosporidies apparaissent alors en rose foncé ou rouge, contrastant avec le reste des matières fécales colorées en vert. Des tests immunologiques ont aussi été mis en place afin de diagnostiquer l'infection : une capture de copro-antigènes est possible par la technique ELISA, ou un marquage des cryptosporidies par un anticorps spécifique couplé à un fluorochrome (IFA). Toutefois, l'avènement des techniques moléculaires comme la PCR permet d'obtenir une meilleure sensibilité. Ces tests permettent aussi de faire la distinction entre les différentes espèces du parasite (Sunnotel *et al.*, 2006).

11. Traitement et contrôle

Près de 200 molécules thérapeutiques ou de prévention des agents antimicrobiens, y compris des composés anti-protozoaires, anticoccidiens et autres antibiotiques à large spectre, et même des vermifuges, ont été testés contre l'infection à *Cryptosporidium* chez les humains et les animaux (Fayer, 1993 et 1997 ; Tzipori, 1998), mais seuls quelques-uns, aminoglycosides, macrolides et ionophores, halofuginone et nitazoxanide, ont montré une activité détectable (McDonald *et al.*, 1990 ; Blagburn *et al.*, 1991 ; Rehg, 1991 ; Villacorta *et al.*, 1991 ; Fayer et Ellis, 1993 ; Fichtenbaum *et al.*, 1993 ; Leméteuil *et al.*, 1993 ; Rehg, 1993 ; Tzipori, 1998).

Peu de rapports de cryptosporidiose aviaire mentionnent si les médicaments anticoccidiens étaient présents dans les aliments ou s'ils ont été utilisés pour la thérapie (Fayer *et al.*, 1997). Des médicaments largement utilisés pour le traitement et la chimioprophylaxie dans

l'industrie de la volaille, halofuginone, lasalocide, maduramicine, monensin, narasin, salinomycine, semduramicine, ionophores, sulfamides, tétracyclines, amprolium, diclazuril, toltrazuril, extraits d'ail ont été testés contre la cryptosporidiose chez les poulets, mais aucun n'a suffisamment réduit l'intensité de l'infection (Glisson *et al.*, 1984 ; Hoerr *et al.*, 1986 ; Lindsay *et al.*, 1987 ; Lindsay et Blagburn, 1990 ; Varga et Sréter, 1996 ; Varga *et al.*, 1994, 1995 ; Sréter *et al.*, 1999). Comme l'efficacité du toltrazuril est de 52% à la dose recommandée, ce médicament, combiné à d'autres mesures de contrôle, peuvent cependant contribuer à réduire l'impact de la cryptosporidiose (Sréter *et al.*, 1999).

On peut donc considérer qu'actuellement, aucune chimiothérapie efficace n'est disponible pour le traitement de la cryptosporidiose aviaire (Lindsay et Blagburn, 1990 ; Ryan et Xiao, 2008).

Les méthodes de contrôle courantes contre cette affection se basent essentiellement sur la prévention des infections ou la limitation des dégâts.

Divers traitements ont été développés pour contrôler la maladie chez l'humain : halofuginone, azithromycine, paromomycine, nitazoxanide.

Traitements expérimentés chez les oiseaux

En aviculture, et en médecine vétérinaire de manière générale, diverses molécules ont été testées avec des résultats souvent mitigés. Sréter *et al.* (2002) ont mené deux batteries de tests pour étudier l'efficacité prophylactique de deux antibiotiques disponibles commercialement, l'enrofloxacin et la paromomycine. L'efficacité de l'enrofloxacin est de 52% à la dose recommandée, efficacité qui n'est pas modifiée en doublant la dose. Au niveau recommandé, la paromomycine réduit l'excrétion d'oocystes de 67-82% chez les oiseaux, montrant l'efficacité la plus élevée de tous les médicaments testés contre la cryptosporidiose aviaire. Le gain de poids des poulets traités à la paromomycine est presque identique à celle des oiseaux de contrôle non infectés, non traités, indépendamment du dosage, indiquant l'absence de toxicité. Bien que la paromomycine ne soit pas enregistrée pour une utilisation chez les oiseaux, elle peut être utile dans le contrôle de la cryptosporidiose dans certains élevages d'oiseaux, en combinaison avec les procédures sanitaires et de désinfection (Sréter *et al.*, 2002). Le traitement par la paromomycine seule ou en combinaison avec l'azithromycine pendant plusieurs semaines n'a pas entraîné une amélioration clinique de la cryptosporidiose respiratoire et est donc considéré comme n'ayant aucun effet bénéfique dans ce syndrome de la maladie (van Zeeland *et al.*, 2008).

Les médicaments comme l'halofuginone, la salinomycine, le lasalocide ou le monensin n'empêchent pas les infections à *C. baileyi* chez les poulets, mais le traitement à l'halofuginone retarde la mise en place d'infections à *C. baileyi* de la bourse de Fabricius et du cloaque, mais pas de la trachée (Lindsay *et al.*, 1987). L'anticoccidien triazinone, dérivé du diclazuril et toltrazuril, ont même réduit le gain de poids avec la dose appliquée chez les poulets (Sréter *et al.*, 2002). Ces résultats pourraient être dus aux effets toxiques des médicaments à des concentrations trop élevées. Les triazinones sont autorisés pour le traitement de la coccidiose du poulet puisque les doses recommandées n'ont pas d'effets négatifs importants.

Les traitements spécifiques n'ayant pas encore démontré pleinement leur efficacité, les mesures de prévention et d'hygiène restent le meilleur moyen de lutter contre cette parasitose.

12. Prophylaxie

12.1. Prophylaxie médicale

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

Par contre, l'infection intestinale et/ou respiratoire par *C. baileyi* peut stimuler chez les poulets de chair une réponse immunitaire suffisante pour débarrasser les muqueuses infectées des parasites et pour rendre l'hôte résistant à l'infection intestinale ou respiratoire suivante par les oocystes des mêmes espèces. L'inoculation orale ou intra-trachéale de poulets de chair âgés de 8 à 14 jours provoque une infection massive des muqueuses exposées pendant 14-16 jours puis une élimination rapide des parasites. Chez les poulets guéris d'infection primaire, des titres élevés d'anticorps sériques spécifiques à *C. baileyi* peuvent être détectés, et ces oiseaux présentent une réaction d'hypersensibilité retardée aux antigènes d'oocystes de *C. baileyi*. Les études de laboratoire suggèrent que l'immunité acquise peut protéger des poulets de chair contre la cryptosporidiose pendant plusieurs semaines. Des études sont nécessaires pour identifier les antigènes de *Cryptosporidium* qui peuvent être utilisés dans les vaccins.

12.2. 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, 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. De même, la qualité de l'alimentation et l'ambiance générale de l'élevage sont des facteurs qu'il convient de maîtriser.

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

- Fumigation au formol ou à l'ammoniaque à 50% (diminution de l'excystation) ou à l'hypochlorite de sodium à 50% qui permet de détruire plusieurs oocystes mais pas la totalité.
- Éventuellement utilisation de la dessiccation et du pouvoir des UV pour le matériel.
- Exposition à des températures élevées : 1 minute à 72°C ou 5 minutes à 64°C (Lindsay et Zajac, 2004 ; Derouin *et al.*, 2002).

Ainsi, un épisode de diarrhée chez des colins de Virginie a été jugulé après désinfection et exposition du matériel au soleil pendant 3 jours.

13. Epidémiologie

13.1. Répartition géographique

Les cryptosporidies des oiseaux sont des parasites cosmopolites, dont la répartition est mondiale. Elles sont retrouvées chez les oiseaux dans tous les continents.

13.2. Sources de parasites

La forme infestante naturelle de *Cryptosporidium* est l'oocyste rejeté à l'extérieur de l'organisme infecté, principalement par les fientes 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 (Glisson *et al.*, 1984 ; Itakura *et al.*, 1985 ; Pavlásek, 1987 ; Zwart *et al.*, 1987).

13.3. Mode de contamination

13.3.1. Contamination directe

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, représentent une source de parasites pour les jeunes individus. Cependant, le risque de mélange d'âges est beaucoup plus rare dans l'élevage avicole que dans les autres espèces, exception faite des élevages de reproducteurs.

13.3.2. Contamination indirecte

Elle est rendue possible par la grande résistance des oocystes cryptosporidiens dans le milieu extérieur. Ce mode de contamination utilise des supports variés : litière, locaux et matériels d'élevage, alimentation et eau de boisson, personnel (O'Donoghue, 1995).

13.4. Voies 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 cette voie (Current *et al.*, 1986 ; Blagburn *et al.*, 1987 ; Lindsay *et al.*, 1987 et 1988).

Lors d'infections expérimentales, de nombreuses voies d'inoculation ont été essayées, avec un développement des cryptosporidies dans des localisations variables. Ceci montre que les cryptosporidies ont une faible spécificité d'organe et peuvent se développer dans bon nombre des sites où elles ont pu parvenir.

Une voie hématogène, permettant d'expliquer ces localisations ainsi qu'un développement dans l'appareil respiratoire lors d'infection expérimentale par voie orale, a été suspectée. Cependant, une étude conduite chez le poulet a montré que l'injection d'oocystes par voie intraveineuse ne permettait le développement de *Cryptosporidium* dans aucun organe (Lindsay *et al.*, 1987). L'extension par contiguïté semble donc être l'hypothèse la plus vraisemblable.

Le développement des cryptosporidies dans l'appareil respiratoire, lors d'inoculation par voie orale, toujours tardif, est expliqué, par certains auteurs, par une contamination aérienne concomitante à partir des fientes. De même, 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).

13.5. Facteurs favorisant la contamination

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 nettoyage et de désinfection des locaux, de vide sanitaire entre les lots successifs, entraînent le maintien du parasite dans le troupeau. De même, une densité excessive, relativement fréquente en élevage avicole, assure une propagation plus aisée de la maladie.

L'augmentation du nombre d'élevages infectés dans certains pays serait due à l'extension de la pratique de la litière accumulée en élevage avicole (Goodwin *et al.*, 1990).

D'autres auteurs signalent de mauvaises conditions sanitaires lors d'épisodes de cryptosporidiose (Fletcher *et al.*, 1982 ; Mason et Hartley, 1980 ; Goodwin, 1989 ; Sironi *et al.*, 1991).

Les conditions climatiques et géographiques sont parfois suspectées de favoriser la contamination. Une augmentation des cryptosporidioses durant l'hiver, par rapport aux autres saisons, est rapportée par Goodwin et Brown (1988), ainsi qu'une différence significative dans la prévalence de la cryptosporidiose entre les différentes régions. Cependant, ces différences ne sont pas expliquées, et le manque de données empêche de conclure sur l'influence du climat et de la localisation géographique.

14. Résistance des cryptosporidies

Les oocystes cryptosporidiens sont très résistants dans le milieu extérieur. De nombreux agents physiques et chimiques ont été testés avec peu de résultats satisfaisants.

14.1. Résistance aux agents physiques

Les études de laboratoire montrent que les oocystes restent viables en solution aqueuse pendant plus de 3 mois à température ambiante (15-20°C) et pendant plus d'un an à 4°C (Chermette et Boufassa-Ouzrout, 1988).

Le pouvoir infectant est perdu grâce à l'action de la chaleur, soit au moins 30 minutes à 65°C (Tzipori, 1983 ; O'Donoghue, 1995). Le froid cause également des dommages aux oocystes, même en présence de cryo-protecteurs (Campbell *et al.*, 1982 ; Lindsay et Blagburn, 1990).

La dessiccation et la chaleur humide sont également efficaces (Anderson, 1986). L'action des rayons ultraviolets est encore mal connue même si elle est parfois utilisée pour désinfecter l'eau de boisson ou, de façon empirique, le matériel d'élevage.

14.2. Résistance aux agents chimiques

La plupart des désinfectants couramment utilisés dans les laboratoires ou les élevages sont inefficaces, excepté l'ammoniaque à 5% et le formol à 10% agissant pendant au moins 18 heures (Campbell *et al.*, 1982), l'ammoniaque à 50% et, dans une moindre mesure, l'hypochlorite de sodium à 50% avec un temps de contact de 30 minutes (Sundermann *et al.*, 1987).

15. Réceptivité et sensibilité

Les facteurs favorisant la réceptivité et/ou la sensibilité aux cryptosporidies sont liés à l'hôte, au parasite et à des agents extérieurs. Ainsi, l'espèce, l'âge, l'état immunitaire des oiseaux, le climat, les conditions d'élevage, l'hygiène, le mode d'élevage, l'alimentation, les affections intercurrentes, les thérapeutiques utilisées sont citées, mais aussi l'espèce de cryptosporidie en cause, son pouvoir infectant et la dose inhalée ou ingérée.

15.1. 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 poulets et dindons déclarent de graves signes de maladie respiratoire entre le 12^{ème} et le 18^{ème} jour post-inoculation, souvent accompagnés de mortalité (Lindsay *et al.*, 1988 ; Goodwin et Brown, 1990)

Dans les mêmes conditions, les canards expriment des signes cliniques entre le 5^{ème} et le 14^{ème} 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).

15.2. Âge

Classiquement, on décrit la cryptosporidiose comme une maladie du jeune animal, mais non néo-natale. Bon nombre de cas rapportés de cryptosporidiose dans les élevages la situent entre 2 et 8 semaines chez le poulet (Fletcher *et al.*, 1975 ; Itakura *et al.*, 1984, 1985 ; Tarwid *et al.*, 1985 ; Pavlasek et Palkovic, 1986 ; Goodwin, 1988 ; Goodwin et Brown, 1988 ; Goodwin *et al.*, 1988 ; Rhee *et al.*, 1991 ; Goodwin et Walman, 1994 ; Goodwin, 1995 ; Goodwin *et al.*, 1996 ; Kichou *et al.*, 1996), et chez le dindon (Slavin, 1955 ; Glisson *et al.*, 1984 ; Tarwid *et al.*, 1985 ; Woodmansee *et al.*, 1988 ; Erganis et Kaya, 1990) et chez le faisan (Wittington et Wison, 1985 ; Randall, 1982 ; Sironi *et al.*, 1991).

On note cependant quelques cas où les animaux sont plus âgés, parfois même lors d'épisodes graves, chez le poulet de 70-80 jours avec une morbidité de 90% (Fernandez *et al.*, 1990) et chez le poulet de 4 mois présentant de l'amaigrissement, de l'abattement et des signes de détresse respiratoire (Nakamura et Abe, 1988).

C. meleagridis est décrit naturellement chez la dinde âgée de 30 jours (Tacconi *et al.*, 2001).

L'étude de transmission croisée montre que les oocystes de *C. galli* sont infectieux au 9ème jour d'âge et non au 40ème jour pour le poulet (Pavlásek, 2001). 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 (Ritter *et al.*, 1986).

Quelques cas de cryptosporidiose clinique sur des oiseaux adultes sont décrits (Goodwin et Krabill, 1989 ; Bauck, 1991), mais il semblerait qu'à l'instar des mammifères, le portage asymptomatique soit fréquent (Gadajhar, 1994). Cependant, les enquêtes permettant d'étayer cette hypothèse manquent, et il serait intéressant de rechercher les cryptosporidies sur des oiseaux adultes et en particulier dans les élevages de reproducteurs.

15.3. 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 réel et maintenant bien admis. Le facteur âge et le facteur immunité sont liés et interviennent de façon concomitante. 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 al.*, 1989).

15.4. Thérapeutiques

L'effet des thérapeutiques immunosuppressives est mal connu du fait de leur faible utilisation dans l'élevage aviaire. 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).

15.5. 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.

15.6. Dose infectante

Seulement 100 oocystes peuvent déclencher l'infection intestinale après une inoculation orale, ou des infections respiratoires après inoculation intra-trachéale (Current, 1990).

Les expériences réalisées chez le poulet indiquent que lorsque la dose augmente, la période prépatente diminue (Levy *et al.*, 1988 ; Taylor *et al.*, 1994 ; Rhee *et al.*, 1995). De même, l'excrétion des oocystes est plus importante 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.

15.7. Conditions d'élevage

Les conditions d'élevage ont une influence déterminante sur l'état de résistance aux maladies des animaux. Premièrement, une hygiène défectueuse, outre qu'elle favorise la contamination, fragilise les animaux par l'installation d'affections bactériennes ou virales et compromet leur état immunitaire. Le non respect ou la mauvaise pratique des prophylaxies médicales va évidemment dans le même sens. Deuxièmement, la qualité et la quantité de l'alimentation distribuée influe directement sur la résistance et 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).

Enfin, une mauvaise ambiance générale de l'élevage (température, hygrométrie, densité, intensité de la lumière, bruits, etc.) conditionne l'apparition d'un état de stress particulièrement défavorable. Les oiseaux sont très sensibles au froid, le rôle de la température est donc particulièrement important. Ainsi, le froid réduit l'immunité à médiation cellulaire et le transfert de l'immunité passive (Silim et Rekik, 1992).

16. Pathogénie

La pathogénicité de *Cryptosporidium* varie selon l'espèce du parasite en cause et le type, l'âge et l'état immunitaire de l'hôte (Xiao *et al.*, 2004). Le premier cas de maladie est rapporté par Tyzzer en 1929 chez le poulet. L'infection est ensuite observée chez plusieurs espèces dont le pinson, l'oie domestique, la caille et le dindon chez lesquels le parasite est associé à une morbidité et une mortalité importantes, surtout chez les animaux âgés de 1 à 11 semaines (Proctor et Kemp, 1974 ; Mason *et al.*, 1980 ; Randall, 1982 ; Gardiner *et al.*, 1988 ; Goodwin *et al.*, 1989). 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.

16.1. Pathogénie des manifestations intestinales

Lors d'affections naturelles, la cryptosporidiose se manifestant par de la diarrhée, les lésions suivantes sont couramment décrites :

- Destruction des microvillosités,
- Atrophie et fusion des villosités,
- Hypertrophie des cryptes,
- Régénération de l'épithélium cylindrique en un épithélium cuboïde (Goodwin, 1988 ; Goodwin *et al.*, 1988 ; Goodwin et Brown, 1989 ; Ozkul et Aydin, 1994)

Les lésions observées provoquent une diminution de la surface d'absorption, responsable d'une malabsorption, facteur de diarrhée.

16.2. Pathogénie de l'infection de la bourse de Fabricius

L'infection de la bourse de Fabricius pourrait être due à la relation anatomique étroite entre celle-ci et l'intestin chez le poulet. En effet, la situation anatomique de la bourse de Fabricius, près du cloaque, pourrait la prédisposer à l'infection. Les principales lésions observées sont les suivantes :

- Hyperplasie et hypertrophie épithéliale,

- Infiltration modérée de la *lamina propria*,
- Œdème inter-folliculaire,
- Déplétion lymphocytaire (Fletcher *et al.*, 1975 ; Randall, 1982 ; Tham *et al.*, 1982 ; O'Donoghue *et al.*, 1987 ; Gorham *et al.*, 1988 ; Nakamura et Abe, 1988 ; Goodwin et Brown, 1989 ; Fernandez *et al.*, 1990 ; Sironi *et al.*, 1991 ; Kichou *et al.*, 1996).

16.3. Pathogénie des manifestations respiratoires

Les lésions observées à tous les niveaux du tractus respiratoire, lors d'infections naturelles, expliquent assez bien les symptômes décrits (Goodwin *et al.*, 1988 ; Nakamura et Abe, 1988 ; Kichou *et al.*, 1996). La lumière de la trachée, des bronches et des capillaires aériens est remplie de débris cellulaires, de cryptosporidies et de mucus. La disparition des cils et l'excès de mucus conduisent à une panne de l'escalator mucociliaire, responsable de l'accumulation des débris dans la lumière. L'encombrement bronchique en résultant explique les symptômes de maladie respiratoire observés (dyspnée, toux, éternuements, râles). Un syndrome pulmonaire résulte de l'atteinte des voies respiratoires supérieures ou inférieures (Sréter et Varga, 2000).

Il semble que l'infection puisse demeurer à l'état subclinique chez les animaux domestiques et que, dans des conditions de stress ou dans toute situation diminuant l'efficacité du système immunitaire, elle puisse se réactiver (Thompson *et al.*, 2007).

L'infection respiratoire peut produire une variété de signes cliniques selon les emplacements particuliers impliqués. Il peut y avoir aérosacculite, pneumonie, sinusite ou conjonctivite, avec toux, dyspnée, écoulement nasal et mortalité. La cryptosporidiose respiratoire peut être tout à fait commune dans certaines régions du monde.

17. Interactions avec les autres agents pathogènes

Des bactéries, virus, champignons et parasites sont cités par divers auteurs comme étant responsables soit de complications secondaires, soit de déclencheurs de l'affection cryptosporidienne, soit encore d'agents immunodépresseurs facilitant l'infection et/ou l'apparition des signes cliniques et des lésions. Parmi ceux-ci :

17.1. Bactéries

- *Escherichia coli* (Glisson *et al.*, 1984 ; Itakura *et al.*, 1984 ; Tarwid *et al.*, 1985 ; Randall, 1982 ; Goodwin, 1988 ; Lindsay *et al.*, 1991)
- *Salmonella* (Lindsay *et al.*, 1991)

- *Pasteurella* (Glisson *et al.*, 1984 ; Goodwin *et al.*, 1988)
- *Chlamydia* (Latimer *et al.*, 1992)
- *Mycoplasma* (Randall, 1982).

17.2. Virus

- Maladie de Marek (Fletcher *et al.*, 1982 ; Goodwin, 1988, Naciri et Mazzella, 1988 ; Goodwin, 1995)
- Maladie de Gumboro (Barton *et al.*, 1992 ; Kichou *et al.*, 1996)
- Maladie de Newcastle (Goodwin *et al.*, 1988 ; Lindsay *et al.*, 1991 ; Goodwin *et al.*, 1996).

17.3. Champignons

- Aspergillose (Nakamura et Abe 1988 ; Barton *et al.*, 1992)
- Candidose (Lindsay *et al.*, 1991 ; Latimer *et al.*, 1992).

17.4. Parasites

- *Eimeria* (Slavin, 1955, Goodwin, 1988 ; Nakamura et Abe, 1988)
- *Hexamita* (Sironi *et al.*, 1991)
- *Syngamus* (Sironi *et al.*, 1991).

18. Immunité chez les oiseaux

18.1. Immunité humorale

Lors de cryptosporidiose, la présence d'anticorps circulants (IgA, IgG et IgM) est mise en évidence (Tzipori et Campbell, 1981 ; Current et Snyder, 1988). Les anticorps apparaissent 4 à 9 jours après inoculation expérimentale et atteignent leur taux maximal entre 14 et 28 jours après inoculation (Hatlkin *et al.*, 1993 ; 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, du fait que leur système immunitaire est plus mûre (Hatlkin *et al.*, 1993).

18.2. Immunité cellulaire

L'envahissement des épithéliums digestifs et respiratoires 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.

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

19. Tableau clinique et lésionnel

19.1. Maladie respiratoire

Les signes cliniques sont généralement représentés par des râles, de la toux, des éternuements et de la dyspnée.

Cryptosporidium baileyi semble être associé à une pathologie respiratoire chez le poulet (Current *et al.*, 1986), chez la caille (Tham *et al.*, 1982) et chez le dindon (Tarwid *et al.*, 1985). L'infection se manifeste par une trachéite et une bronchite. Un excès de mucus dans la trachée (et parfois les sinus) est la principale lésion macroscopique rencontrée. Une aérosacculite peut être présente, de même que des lésions de pneumonie.

Les lésions microscopiques des tissus respiratoires sont caractérisées par une hyperplasie épithéliale, un exsudat muco-cellulaire, de la déciliation et un épaissement de la muqueuse dû à une infiltration de cellules inflammatoires.

19.2. Entérite

Des entérites cryptosporidiennes sont décrites chez le poulet (Goodwin *et al.*, 1988). L'intestin grêle et le cæcum sont distendus par du gaz et un liquide aqueux grisâtre. Les lésions microscopiques sont représentées par de l'atrophie villositaire, une hyperplasie des cryptes et une infiltration de la *lamina propria*.

A l'autopsie, l'intestin grêle apparaît distendu par un contenu liquide blanchâtre ou grisâtre et par des gaz. Des lésions similaires sont parfois retrouvées dans le cæcum. Les lésions microscopiques consistent en :

- Atrophie et fusion des villosités,
- Disparition des microvillosités,
- Infiltration de la *lamina propria* par des cellules inflammatoires.

19.3. Proventricule

L'histopathologie de proventricules de pinsons infectés montre une nécrose et de l'hyperplasie épithéliales des cellules glandulaires, liées à un grand nombre d'oocystes de *C. galli* attachés à la surface épithéliale des cellules glandulaires (Morgan *et al.*, 2001).

19.4. Atteinte rénale

L'atteinte de l'appareil urinaire par les cryptosporidies est rapportée chez le poulet (Nakamura et Abe, 1988). Les épithéliums des tubes collecteurs, des tubes contournés et des uretères sont hypertrophiques et hyperplasiques. Le tissu interstitiel est infiltré par des cellules inflammatoires.

20. La cryptosporidiose chez diverses espèces

20.1. Cryptosporidiose du poulet

La cryptosporidiose du poulet se manifeste le plus souvent sous une forme respiratoire (Goodwin *et al.*, 1996 ; Kichou *et al.*, 1996). Les atteintes digestives (Kichou *et al.*, 1996) ou rénales (Nakamura et Abe, 1988) sont moins fréquemment signalées. L'animal affaibli souffre d'une diarrhée très liquide, verdâtre, et sa croissance est interrompue. D'autres agents pathogènes sont souvent présents (*Eimeria*, colibacilles) et le rôle des cryptosporidies en tant que cause de la maladie reste donc incertain.

20.2. Cryptosporidiose du dindon

Chez le dindon, la forme la plus couramment rapportée est la forme respiratoire (Glisson *et al.*, 1984 ; Tarwid *et al.*, 1985). La maladie liée à l'infection entérique semble rare. Il peut y avoir aérosacculite, pneumonie, sinusite ou conjonctivite, avec toux, dyspnée, jetage nasal et mortalité. La cryptosporidiose respiratoire peut être tout à fait commune dans quelques régions du monde.

Il est à noter que le dindon est l'hôte de référence de *Cryptosporidium meleagridis* soupçonné d'être à l'origine des épisodes d'entérites cryptosporidiennes chez les oiseaux.

21. Diagnostic

21.1. Diagnostic *ante mortem*

Ce type de diagnostic fait appel à des techniques de concentration et de coloration à partir des matières fécales.

21.1.1. Concentration des oocystes

Plusieurs techniques sont disponibles pour montrer la présence d'oocystes dans les matières fécales, les plus sensibles faisant appel à la centrifugation pour concentrer les éléments parasitaires, suivie d'une coloration (O'Donoghue, 1995). Pour le diagnostic de routine, on

utilise une flottaison ou une centrifugation dans une solution sucrée saturée ou dans une solution de formol et d'éther, ce qui permet l'extraction des lipides des matières fécales. Une centrifugation à 500 g pendant au moins 10 minutes est suggérée, étant donné la faible taille des organismes à concentrer (O'Donoghue, 1995).

Au microscope à lumière, les oocystes apparaissent dans la solution de sucrose comme de petites structures rondes à cytoplasme rosé et contenant quelques granules foncés.

D'autres méthodes de concentration sont parfois utilisées : techniques de flottaison au sulfate de zinc, avec une solution de chlorure de sodium saturée ou à l'iodo-mercurate de potassium.

21.1.2. Coloration

Les meilleures techniques sont celles qui colorent le parasite lui-même plutôt que celles avec lesquelles le parasite apparaît en contraste de phase.

21.1.2.1. Coloration de Ziehl-Nielsen modifiée

La coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Polack est une technique simple et rapide à réaliser. Elle permet en outre une lecture facile. Elle permet la mise en évidence des oocystes coccidiens. Elle est particulièrement recommandée pour la mise en évidence des kystes de *Cryptosporidium* qui se différencient des autres oocystes par leur très petite taille. C'est une technique non spécifique mais sensible et d'interprétation facile. Les oocystes sont colorés en rouge ou en rose sur fond vert ou bleu.

21.1.2.2. Coloration acide rapide de Kinyoun

Cette méthode est très proche des colorations de Ziehl-Nielsen, rapide, sensible et spécifique. Le temps de décoloration s'avère en être le point délicat qu'il est important de maîtriser (Latimer *et al.*, 1988 ; Current, 1990).

La coloration à froid de Kinyoun est une technique de coloration à la fuchsine basique.

Kinyoun a décrit sa méthode à froid en 1915. Toutefois, il s'agissait essentiellement d'une méthode de concentration à l'eau de Javel, ce qui explique probablement le nombre plus important de résultats positifs par comparaison à la coloration de Ziehl-Neelsen. À la différence de Ziehl-Neelsen (chauffage jusqu'à production de vapeur), dans cette coloration on ne chauffe pas, on utilise un colorant comprenant une concentration élevée de fuchsine basique (3,1%) et de phénol (6,25%), ce qui permet de colorer seulement pendant 5 min sans chauffer. L'avantage de cette coloration à froid réside dans sa rapidité d'exécution. Avec cette

technique, les oocystes sont pâles et la coloration manque de contraste : elle n'est pas à conseiller en routine, il est préférable d'utiliser la coloration de Ziehl-Neelsen à chaud.

21.1.2.3. Coloration de Heine

Cette méthode est fiable et rapide à mettre en œuvre mais présente un inconvénient majeur : sa lecture est très limitée dans le temps (Current, 1990).

21.1.3. Technique de flottaison d'Anderson

C'est une technique de flottaison en solution saturée de saccharose, qui comporte une dilution des fèces dans l'eau, une filtration sur gaze et une centrifugation. Le culot est ensuite repris en liquide de flottaison composé de saccharose (50 g), de phénol (0,65 g) et d'eau (32 ml). Le mélange est de nouveau centrifugé et le surnageant recueilli sur des lames pour observation.

21.1.4. Technique à l'auramine O

Comme pour la technique de Kinyoun, le temps de décoloration est délicat mais assure une lecture plus facile, tous les autres éléments des selles se trouvant décolorés. Un microscope à fluorescence est nécessaire pour la lecture.

21.2. Diagnostic *post mortem*

Le diagnostic de la cryptosporidiose est initialement basé sur l'identification des stades endogènes par un examen histologique dont l'intérêt est de localiser les zones infectées et d'évaluer l'étendue des lésions.

21.2.1. Diagnostic histologique

Les coupes histologiques d'organes (intestin, bourse de Fabricius, cloaque, trachée), classiquement fixées au liquide de Bouin ou au formol à 10% puis colorées au Giemsa, à l'hématoxyline-éosine ou au bleu de toluidine, permettent d'observer les parasites (2 à 5 u) à la surface des cellules épithéliales (Naciri, 1989).

Une coupe histologique sous le microscope optique révèle que :

- Dans la bourse de Fabricius des poulets, le parasite entraîne une hyperplasie de l'épithélium, une infiltration modérée du chorion sous-jacent par des cellules inflammatoires de types lymphocytaire et plasmocytaire et une atrophie des follicules bursaux qui sont remplacés, dans certaines zones, par du tissu fibreux (Kichou *et al.*, 1990).
- Dans l'appareil respiratoire, les changements histopathologiques sont représentés par une

métaplasie de la muqueuse des bronches et de la trachée, une déciliation et une infiltration par des lymphocytes, des cellules plasmiques et des histiocytes (Dhillon *et al.*, 1981 ; Randall, 1982 ; Itakura *et al.*, 1984 ; Travis *et al.*, 1990).

21.2.2. Examen de raclage

Cet examen concerne plusieurs organes comme l'intestin (iléon), le cloaque et la bourse de Fabricius. Sur certains organes, des empreintes (ou calques) permettent également de mettre en évidence les cryptosporidies (Naciri et Mazzella, 1988).

La technique consiste à réaliser un frottis mince puis une fixation au méthanol pendant 5 mn après séchage. Les étalements séchés à l'air et fixés au méthanol peuvent être conservés à température ambiante pendant au moins 6 mois avant coloration.

Deuxième partie : étude expérimentale

1. Objectifs

Les objectifs de l'étude sont la recherche de *Cryptosporidium* chez le poulet de chair et la dinde dans quelques élevages des régions d'Alger et de Boumerdes, l'estimation de la prévalence de l'infection dans les élevages objets de l'enquête, et la recherche de corrélations entre l'infection et d'éventuels signes cliniques et lésionnels, ainsi qu'avec des facteurs favorisants. Les critères pris en considération sont les paramètres d'ambiance (température, lumière, hygrométrie), l'état de la litière, ainsi que l'observation des pratiques d'élevage, ceci dans le but de déterminer les facteurs associés à l'infection cryptosporidienne.

Un autre objectif est de déterminer, parmi diverses techniques, une méthode simple pour l'identification des cryptosporidies. De nombreuses méthodes sont en effet utilisées par divers auteurs pour l'identification des parasites, dont la spécificité et la sensibilité sont très variables. Le choix parmi celles-ci est conditionné, entre autres, par la disponibilité des produits et la simplicité du procédé. Une méthode conventionnelle est entreprise afin d'identifier l'espèce parasitaire à partir du lieu d'isolement, des organes affectés et des caractères morphométriques. Une comparaison est établie avec d'autres techniques.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel

2.1.1. Élevages

Les animaux prélevés en vue des diverses analyses appartiennent à des élevages situés principalement dans les régions de Boumerdes et Alger. Ceux-ci ne sont pas expressément sélectionnés ou échantillonnés sur quelque paramètre que ce soit, mais choisis en fonction de la fraîcheur des cadavres parvenant au laboratoire d'anatomo-pathologie, dans le cadre des cliniques aviaires. Les bâtiments d'élevage à partir desquels ils sont issus sont représentatifs des modes de construction les plus courants dans notre pays, c'est-à-dire le plus souvent sans respect des normes universellement admises en la matière.

Ainsi, 5 élevages de poulets de chair logés en bâtiment conventionnel et 5 autres élevés en hangar sous serre sont enquêtés. Pour ce qui concerne la dinde, 3 élevages en bâtiment classique et 8 hangars sous serre sont concernés par l'étude.

Les constructions sous serre sont faites à base d'arceaux (photo 1), habituellement utilisés dans l'agriculture, couverts par des films plastiques doublés de roseaux qui, selon le point de vue des éleveurs, serviraient pour l'isolation.



Photo 1 : Vue extérieure d'une serre utilisée en élevage avicole (photo personnelle)

Au démarrage, les techniques d'élevage des dindes sont proches de celles qui sont préconisées dans la littérature et par les instituts de sélection (photo 2).



Photo 2 : Dindonneaux sous éleveuses à la première semaine (photo personnelle)

Cependant, dès la troisième ou quatrième semaine, certaines dérives sont observées, concernant en particulier la densité, l'hygiène des mangeoires et des abreuvoirs, ainsi que l'aération (photos 3 et 4).



Photo 3 : Enlèvement des gardes à la troisième semaine (photo personnelle)



Photo 4 : Cheptel de dindes en fin d'élevage (photo personnelle)

2.1.2. Matériel de laboratoire

2.1.2.1. Technique de Ritchie simplifiée

Pour la technique de Ritchie simplifiée, le matériel suivant est utilisé :

- Verres à pied conique,
- Agitateur en verre,
- Lames porte-objet,

- Lamelles 22 x 22 mm,
- Balance électrique,
- Pissette,
- Pipette Pasteur,
- Tubes coniques en verre avec bouchon en caoutchouc,
- Centrifugeuse,
- Microscope optique.

Ainsi que les réactifs suivants :

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

2.1.2.2. Coloration de Ziehl-Neelsen modifiée

Pour la coloration de Ziehl-Neelsen, les matériel et réactifs suivants sont utilisés :

- Lames bien dégraissées (avec un mélange alcool-éther),
- Bacs à coloration,
- Pincettes,
- Minuterie,
- Microscope optique.

Et pour les réactifs et autres produits :

- Eau de robinet,
- Méthanol pur,
- Fuchsine phéniquée de Ziehl modifiée, préparée au laboratoire, composée d'une solution A (10 ml d'un mélange de fuschine basique 15 g et d'éthanol à 95% 100 ml) et d'une solution B (90 ml d'un mélange phénol 5 g et eau distillée 100 ml). Le mélange est laissé à reposer et filtré avant emploi.
- Acide sulfurique à 2%, préparé au laboratoire à l'aide de 196 ml d'eau distillée et 4 ml d'acide sulfurique concentré. L'acide est versé goutte à goutte dans l'eau.
- Vert de malachite à 5%, préparé avec 5 g de poudre de vert de malachite et 100 ml d'eau distillée. Le réactif est laissé reposer et filtré avant emploi.

2.1.2.3. Autres matériels

- Glacière pour l'acheminement des prélèvements vers les laboratoires,
- Pots en plastique propres pour les prélèvements de matières fécales,
- Étiquettes autocollantes pour inscrire les renseignements,

- Gants.

2.1.3. Échantillonnage

Un nombre total de 297 sujets est collecté au hasard, fraîchement morts ou moribonds, dont 204 poulets et 93 dindes, issus de 21 élevages en bâtiment dur ou sous serre, respectivement 13 et 8, situés dans les régions d'Alger et Boumerdes. Il s'agit de 10 élevages de poulets de chair, dont 5 élevés en bâtiments conventionnels, et 11 élevages de dindes dont 3 seulement en bâtiments classiques.

Des prélèvements de fientes, fraîchement recueillis dans 8 élevages, sont également examinés chez la dinde en cas de présence de diarrhée dans l'élevage, habituellement sans mortalité. Une fiche technique de renseignements est établie pour chaque élevage concerné.

2.1.4. Protocole de prélèvement

Les prélèvements sont réalisés, au cours de l'autopsie, directement sur les cadavres des animaux sacrifiés ou morts depuis moins de 6 heures. Le moment de la mort est indiqué par le propriétaire, mais aussi apprécié visuellement sur la fraîcheur du cadavre. En outre, l'âge, le type de production et la date du prélèvement sont enregistrés, ainsi que, dans la mesure du possible, les symptômes (présence ou absence de diarrhée, bruits respiratoires) et les lésions observées.

Les fientes sont prélevées dès leur émission spontanée, acheminées à + 4°C à l'École Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger, et conservées jusqu'à leur analyse parasitologique. Une partie des autres prélèvements est aussi conservée à + 4°C pour des travaux ultérieurs.

Après autopsie, une partie des organes est prélevée : iléon, cloaque, bourse de Fabricius et trachée. Une première section de ces organes est réservée pour les études histologiques, fixées au formol à 10% et conservées à température ambiante. Une deuxième portion est sectionnée longitudinalement pour réaliser les frottis.

2.2. Méthodes

2.2.1. Techniques utilisées pour la mise en évidence du parasite

2.2.1.1. À partir des fientes

Deux techniques sont utilisées pour la recherche des oocystes de *Cryptosporidium* à partir des fientes. Il s'agit de la technique de concentration de Ritchie simplifiée par Allen et Ridley (Gati, 1992) suivie de la technique de coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz (1981), technique connue pour sa spécificité et sa sensibilité.

Les frottis des prélèvements de fientes sont donc analysés après concentration par la méthode de Ritchie. Les lames sont fixées dans le méthanol, puis colorées par la méthode de Ziehl-Nielsen modifiée. La lecture des lames se fait aux grossissements 40 puis 100. Les oocystes de *Cryptosporidium* apparaissent comme des éléments ronds à ovoïdes, de 4-6 μm de diamètre, colorés en rouge vif, parfois en rose (photo 5).

Le matériel utilisé pour la technique d'enrichissement de Ritchie simplifiée est composé de verres à pied coniques, agitateurs en verre, lames porte-objet, portoirs, balance électrique, pissette, pipette Pasteur, tubes coniques en verre, centrifugeuse et microscope optique. Les produits employés sont l'eau formolée à 10% et l'éther diéthylique.

Le matériel pour la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée est composé de lames, bacs à coloration, pinces, minuterie et microscope optique. Les produits sont le méthanol pur, la fuchsine phéniquée de Ziehl modifiée, le vert de malachite et l'acide sulfurique à 2%.

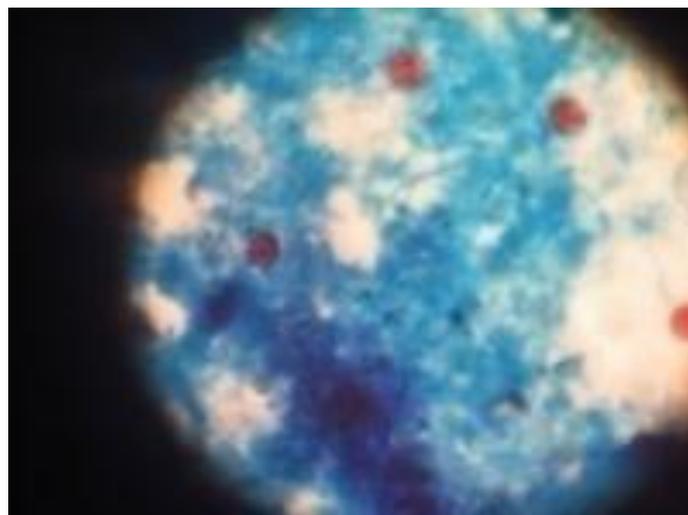


Photo 5 : Oocystes de *Cryptosporidium* en microscopie optique (photo personnelle)

2.2.1.2. A partir des organes

Un frottis de muqueuse est réalisé à partir des organes, après ouverture à l'autopsie. A l'aide du bord d'une lame, la muqueuse est raclée énergiquement. A l'aide d'une autre lame, un frottis est confectionné, laissé sécher à l'air, fixé par le méthanol, puis coloré suivant la même technique que précédemment. Le frottis a l'avantage de pouvoir être réalisé jusqu'à 36 h *post mortem*. Le matériel utilisé pour réaliser les frottis est composé de bistouri, ciseaux et lames. Les produits sont le méthanol pur, la fuchsine phéniquée de Ziehl modifiée, le vert de malachite, l'acide sulfurique à 2% et un microscope optique. La lecture des lames se fait aussi aux grossissements 40 puis 100. Les oocystes de *Cryptosporidium*, comme pour les

fèces, sont des éléments ronds à ovoïdes, de 4-6 µm de diamètre, colorés en rouge vif, parfois en rose.

2.2.2. Description des techniques

2.2.2.1. Technique de Ritchie simplifiée par Allen et Ridley

C'est une technique polyvalente réalisée systématiquement, pour chaque prélèvement, diarrhéique ou pas. 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 diluait les selles dans un mélange égal d'éther et d'acide chlorhydrique.

Mode opératoire

1. Déposer 3 à 5 grammes de selles dans un verre à pied conique.
 2. Verser dans le verre à pied un volume d'eau formolée à 10%, 2 à 3 fois supérieur à celui des selles.
 3. Agiter à l'aide d'un agitateur en verre jusqu'à obtention d'une dilution homogène.
 4. Laisser décanter 1 à 2 minutes pour éliminer les gros débris fécaux.
 5. A l'aide d'une pipette Pasteur, aspirer une partie du surnageant et verser dans un tube conique en verre l'équivalent de 2/3 du volume total à émulsionner.
 5. Ajouter un volume d'éther correspondant à 1/3 du volume total à émulsionner.
 6. Boucher le tube en prenant soin de laisser un espace vide pour le liquide, d'environ 1 cm, pour permettre l'émulsion.
 7. Agiter le tube vigoureusement pendant une minute.
 8. Peser les tubes pour équilibrer avant centrifugation.
 9. Centrifuger à 400 g (2.500 tours / minute) pendant 5 minutes.
- Après centrifugation, le contenu du tube se répartit en 4 couches qui sont, de haut en bas :
- Une couche éthérée 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.
10. Jeter énergiquement le surnageant et garder le culot.

Lecture

Prélever une goutte du culot à l'aide d'une pipette Pasteur après homogénéisation, déposer sur une lame, mélanger avec une goutte de lugol, couvrir d'une lamelle et examiner à l'objectif 10 puis 40 pour la recherche des œufs d'helminthes, de *Cryptosporidium* et/ou éventuellement de kystes de protozoaires .

2.2.2.2. Technique de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz

C'est la technique de coloration de référence utilisée pour l'identification spécifique des cryptosporidies.

Mode opératoire

a. Confection du frottis fécal :

Le frottis doit être mince et adhérent à la lame. Il est réalisé à partir du culot de centrifugation de la méthode de Ritchie simplifiée décrite précédemment.

A l'aide d'une pipette Pasteur, 1 ou 2 gouttes du culot de centrifugation sont prélevées après une légère homogénéisation. Sur deux lames bien dégraissées et numérotées par grattage (à l'aide d'un diamant de préférence, pour une bonne reconnaissance ultérieure), la goutte est déposée à l'une des extrémités de la lame, et mise en contact avec le bord d'une autre lame. La goutte diffuse sur le bord de la lame par capillarité, elle est ensuite étalée sur toute la surface de la lame, d'une manière continue en zigzag, sans revenir au point de départ. Un frottis mince est alors obtenu, avec plusieurs épaisseurs, c'est le cas d'un bon frottis. Celui-ci est laissé sécher à l'air durant une nuit.

b. Fixation, coloration du frottis :

- Fixer le frottis au méthanol pendant 5 minutes.
- Laisser sécher à l'air ou par agitation.
- Colorer dans une solution de fuschine phéniquée pendant 60 minutes.
- Rincer à l'eau du robinet.
- Différencier avec une solution d'acide sulfurique à 2% pendant 20 secondes pour décolorer et éliminer les débris et les autres micro-organismes.
- Rincer à l'eau du robinet.
- Contre-colorer avec une solution de vert de malachite à 5% pendant 5 minutes. Tout est coloré en vert sauf les cryptosporidies qui gardent la coloration rouge.
- Rincer à l'eau du robinet.

- Laisser sécher à l'air ou par agitation.

La lecture se fait au microscope, à l'objectif 40 puis 100 à immersion.

Cette technique permet de visualiser nettement les oocystes de *Cryptosporidium*, qui sont colorés par ce procédé en rouge vif, parfois en rose, sur un fond vert. Ce sont des éléments ronds à ovoïdes, de 4-6 μm de diamètre en moyenne, à paroi épaisse. Dans le cytoplasme, on retrouve une zone centrale ou latérale plus claire, non colorée, qui correspond au corps résiduel (reliquat oocystal). En périphérie ou au centre, des granulations noirâtres au nombre de quatre ou plus, correspondent aux sporozoïtes (photo 6).

La lecture se fait sur toute la surface de la lame, de haut en bas et de gauche à droite.

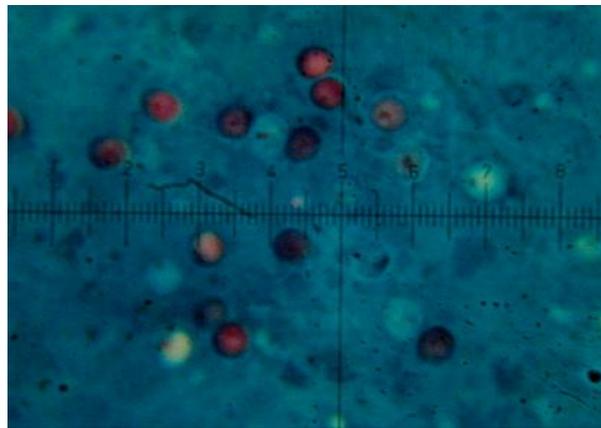


Photo 6 : Oocystes de *Cryptosporidium* colorés par la technique de Ziehl-Neelsen (photo personnelle)

2.2.3. Examen histopathologique

Pour l'histologie, les différents organes prélevés (trachée, intestin, bourse de Fabricius, proventricule) sont fixés au formol à 10%, colorés à l'aide de l'hématoxyline-éosine et examinés au microscope à grossissement 40.

Cet examen sert, d'une part, à confirmer les cas positifs détectés par la technique de Ziehl-Neelsen modifiée, et retrouver d'éventuels cas positifs non révélés par cette dernière et, d'autre part, pour étudier les lésions histologiques à l'origine de la mort de l'oiseau et l'association d'autres agents pathogènes éventuels. Cependant, la limite principale de ce procédé est la période *post mortem*, qui ne doit pas dépasser six heures avant sa réalisation, en raison de l'autolyse cellulaire qui gênerait la lecture. Les tissus, après fixation, sont déshydratés et inclus à la paraffine dans des blocs conçus à cet effet. Des coupes de 4 à 5 μm sont confectionnées, colorées ensuite par la technique habituelle à l'hématoxyline-éosine. La lecture se fait au microscope optique, au grossissement 40 pour observer le parasite (4-5 μm)

et les lésions, puis au grossissement 100 pour distinguer les stades du développement parasitaire au sein de la muqueuse.

2.2.4. Mesure de l'oocyste

La détermination des dimensions oocystales se fait à travers un micromètre oculaire (photo 6) inséré dans le microscope, aux grossissements 40 puis 100.

Pour déterminer la valeur au micromètre pour chaque objectif :

- x divisions de l'oculaire = y μm au niveau du micromètre-objet.
- Une division oculaire = y/x μm .
- Le chiffre retrouvé est arrondi à la classe supérieure ou inférieure.
- Des mesures répétées des mêmes éléments présents dans un seul prélèvement sont effectuées.

2.2.5. Analyses statistiques

Le test χ^2 est utilisé pour les analyses statistiques. Le résultat est significatif lorsque $p < 0,05$.

L'intervalle de confiance fournit l'étendue des valeurs dans lesquelles on s'attend à trouver la valeur réelle de l'indicateur étudié, avec une probabilité donnée. Ainsi, l'intervalle de confiance à 95% serait $p \pm 2 \sigma$ où $\sigma = \sqrt{pq/n}$ (Toma *et al.*, 2001), où p est le pourcentage déterminé sur l'échantillon n de la population, et q le complément à 100% du pourcentage déterminé.

3. Résultats

3.1. Prévalence globale de *Cryptosporidium* dans les élevages

Au total, sur les 297 sujets examinés, 122 hébergent des cryptosporidies, soit une prévalence globale de 41,1% (tableau 3), dont 79 poulets sur 204 (38,7%) et 43 dindes sur 93 (46,2%).

Tableau 3 : Prévalence de la cryptosporidiose dans les élevages

Espèce	Nombre de prélèvements	Nombre de positifs	Prévalence (%)
Poulet	204	79	38,7
Dinde	93	43	46,2
Total	297	122	41,1

3.2. Prévalence de *Cryptosporidium* par tranche d'âge

Les tranches d'âge, subdivisées arbitrairement en dizaines de jours, montrent une évolution croissante, puis décroissante, de l'infection cryptosporidienne (tableau 4). La décroissance survient au-delà de 30 jours pour le poulet, et au-delà de 40 jours pour la dinde.

À jeune âge, durant la première décade, la prévalence de l'infection est relativement faible, de 9% pour le poulet et 12,5% chez la dinde. Elle augmente ensuite brutalement jusqu'à un pic observé à 21-30 jours pour les poulets et à 21-40 jours pour la dinde, avant de diminuer progressivement chez les deux espèces.

Tableau 4 : Prévalence de l'infection en fonction de l'âge

Age (j)	Total	Poulets	Positifs	Dindes	Positives
1-10	79	55	5 (9%)	24	3 (12,5%)
11-20	67	49	23 (46,9%)	18	9 (50%)
21-30	56	37	28 (75,7%)	19	14 (73,7%)
31-40	44	30	13 (43,4%)	14	11 (78,6%)
41-50	29	17	6 (35,3%)	12	4 (33,3%)
51-60	22	14	4 (28,6%)	8	2 (25%)
Total	297	204	79 (38,7%)	93	43 (46,2%)

La figure 7 permet une visualisation plus précise de l'évolution de l'infection chez les deux espèces étudiées :

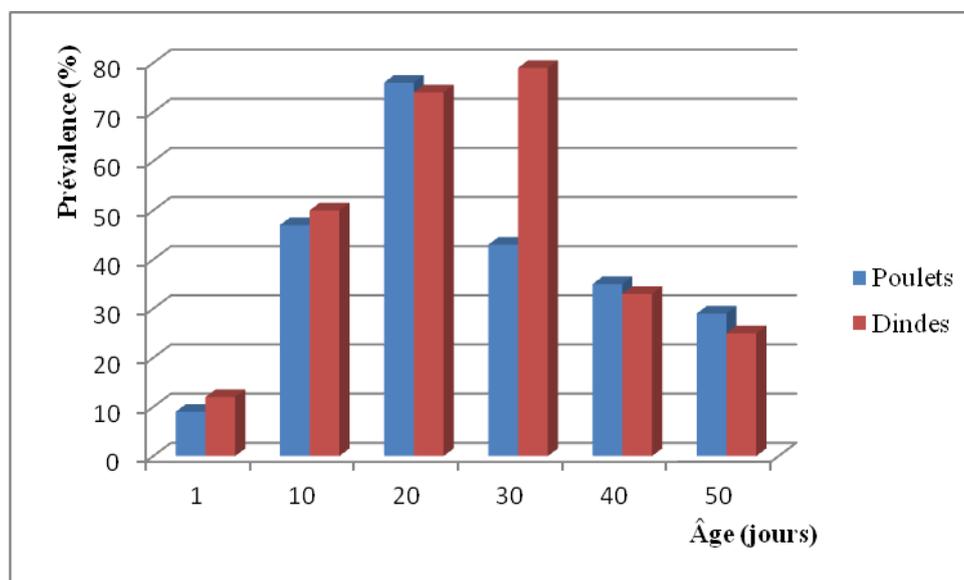


Figure 7 : Variation de la prévalence en fonction de l'âge des animaux

3.3. Variation de la prévalence en fonction des méthodes utilisées

Les examens histologiques concernent la trachée, la bourse de Fabricius, l'intestin et le proventricule.

Le prélèvement est considéré comme positif lorsqu'une cryptosporidie est retrouvée.

Les frottis sont réalisés sur la trachée et l'intestin.

Seules les fientes de dindes sont étudiées.

Tableau 5 : Présence de cryptosporidies révélée par les différentes analyses

Espèce	Histologie	Positifs	Frottis	Positifs	Fientes	Positifs
Poulet	612	219 (35,8%)	408	179 (43,9%)	0	0
Dinde	279	111 (39,8%)	186	87 (46,8%)	33	9 (27,3%)

A l'histologie des divers organes, 35,8% des prélèvements analysés chez le poulet se révèlent positifs à l'infection cryptosporidienne.

Chez le dindon, 39,8% des organes analysés sont infectés (tableau 5).

L'analyse des frottis effectués sur trachées et intestins de ces mêmes animaux révèlent des prévalences supérieures aux précédentes : 43,8% chez le poulet et 46,8% chez le dindon. Les dindes diarrhéiques présentent 27,3% de matières fécales positives à la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée.

3.4. Fréquence des localisations de *Cryptosporidium*

Le tableau 6 montre que l'iléon représente l'organe le plus infecté par *Cryptosporidium*, soit une fréquence moyenne de 51,4%, avec une différence appréciable, mais non significative, entre les deux espèces considérées : 54,3% pour la poule et 48,5% pour la dinde. La bourse de Fabricius des poulets est infectée pour 47,5% des cas autopsiés. La trachée, quant à elle, ne présente que 23,9% de cas positifs sur l'ensemble des prélèvements examinés, 25,2% chez le poulet et 22,5% chez la dinde (tableau 6).

Tableau 6 : Fréquence des localisations des cryptosporidies

Localisation	Trachée		Iléon		Bourse de Fabricius
Espèce	Poulet	Dinde	Poulet	Dinde	Poulet
Par espèce	25,2%	22,5%	48,5%	54,3%	47,5%
Total	23,9%		51,4%		47,5%

3.5. Fréquence des localisations en fonction de l'examen réalisé

La comparaison des résultats obtenus sur les différents organes étudiés révèle des différences importantes entre l'examen histologique et celui des frottis réalisés sur les iléons de poulets (tableau 7) : 36,8% de positifs à l'histologie contre 60,3% pour les frottis. Les différences sont moins importantes lorsqu'il s'agit de la trachée : 23% pour l'histologie contre 27,4% pour les frottis chez le poulet.

Chez la dinde, la trachée révèle des taux de positivité largement inférieurs à l'histologie : 9,7 contre 35,5% pour les frottis. L'iléon dévoile des taux d'infection élevés, ainsi que des différences importantes, tant vis-à-vis de l'espèce poule qu'entre les types d'examen : 83,9% pour les frottis (60,3% chez la poule) contre 24,7% pour l'histologie (36,8% chez la poule).

Les bourses de Fabricius ne sont prélevées que chez les poulets, et étudiées à l'histologie. Celle-ci permet de retrouver 47,5% de poulets infectés par les cryptosporidies.

Au total, l'examen des frottis permet de retrouver plus de cas d'infection chez le poulet (43,8% contre 29,9% pour l'histologie), et encore plus chez la dinde (59,7% contre 17,2% pour l'histologie), ce qui rejoint les résultats observés dans les différents organes.

Tableau 7 : Variation de la localisation en fonction du type d'examen

Organe	Poulet	Histologie +	Frottis +		Dinde	Histologie +	Frottis +
Trachée	204	47 (23%)	56 (27,4%)		93	9 (9,7%)	33 (35,5%)
Iléon	204	75 (36,8%)	123 (60,3%)		93	23 (24,7%)	78 (83,9%)
B.F.	204	97 (47,5%)	-		-	-	-
Total (hors BF)	408	122 (29,9%)	179 (43,8%)		186	32 (17,2%)	111 (59,7%)

3.6. Variation de la prévalence en fonction de la saison

La saison n'a apparemment pas d'influence sur les taux d'infection à cryptosporidies puisque la différence n'est statistiquement pas significative, bien que les taux retrouvés en été soient nettement inférieurs à ceux observés durant le reste de l'année : respectivement 7 et 4% chez le poulet et la dinde durant l'été, contre des moyennes de 24 et 13% le reste de l'année (tableau 8).

Tableau 8 : Variation de la prévalence au cours de l'année

Saison	Poulets	Positifs (%)		Dindes	Positifs (%)
Automne	55	24		34	11
Hiver	65	26		29	13
Printemps	61	22		19	15
Été	23	7		11	4
Total	204	79		93	43

3.7. Variation en fonction du type de bâtiment d'élevage

Les prélèvements sont effectués soit dans des bâtiments traditionnels, construits en dur, soit à partir de hangars sous serre, de plus en plus répandus car de conception peu coûteuse, rapides à installer, mais dont les inconvénients, envisagés dans la discussion, ne sont pas négligeables.

Ainsi, 167 poulets proviennent de 15 élevages sous serre, tandis que 37 sont prélevés dans 5 bâtiments classiques. De même, 8 élevages sous serre fournissent 75 dindes, tandis que les 18 autres sont prélevées dans 3 constructions en dur.

Les prélèvements révélés positifs sont nettement en faveur des bâtiments construits en dur (tableau 9) puisqu'ils représentent 11 et 8% pour ces derniers, respectivement chez le poulet et la dinde. Dans les hangars sous serre, ces taux sont de 58% parmi les poulets prélevés et 35% parmi les dindes.

Tableau 9 : Type de bâtiment et prévalence de l'infection cryptosporidienne

Bâtiment d'élevage	Poulets		Positifs (%)	Dindes		Positifs (%)
	Elevages	Prélèvements		Elevages	Prélèvements	
Sous serre	15	167	58	8	75	35
Classique	5	37	11	3	18	8

3.8. Variation de la prévalence en fonction de la région d'étude

En considérant la wilaya dans laquelle les prélèvements sont effectués, celle de Boumerdes fournit 52% de positifs parmi les poulets et 31% parmi les dindes, tandis que les pourcentages de positifs à la cryptosporidiose dans la wilaya d'Alger sont de 28 et 12% respectivement chez le poulet et la dinde (tableau 10).

Tableau 10 : Variation de la prévalence en fonction de la région d'étude

Région	Poulets	% positifs	Dindes	% positifs
Boumerdes	127	52	62	31
Alger	77	28	31	12

3.9. Dimensions des oocystes

Les oocystes de *Cryptosporidium* sont identifiés en tant que sphères de forme ovoïde ($5 \pm 1 \mu\text{m}$), colorés en rose lumineux sur un fond vert pâle (photo 7). La charge d'oocystes est minime, approximativement 5 oocystes par glissière, lorsque les prélèvements sont réalisés à partir de la litière (mélange des fientes d'oiseaux sains et d'oiseaux malades). Les bactéries et levures prennent une coloration rouge terne uniforme et de tailles différentes des oocystes de *Cryptosporidium*.

Pour les examens de raclage, le degré d'infestation est important pour les lames positives. Les cryptosporidies apparaissent rondes à ovoïdes, de 4-6 μm , rouge vif sur fond vert. Leur cytoplasme est granuleux, avec un centre souvent plus clair. Tous les autres éléments sont colorés en vert. Les coccidies sont également de couleur rouge vif, mais elles sont beaucoup plus grosses.

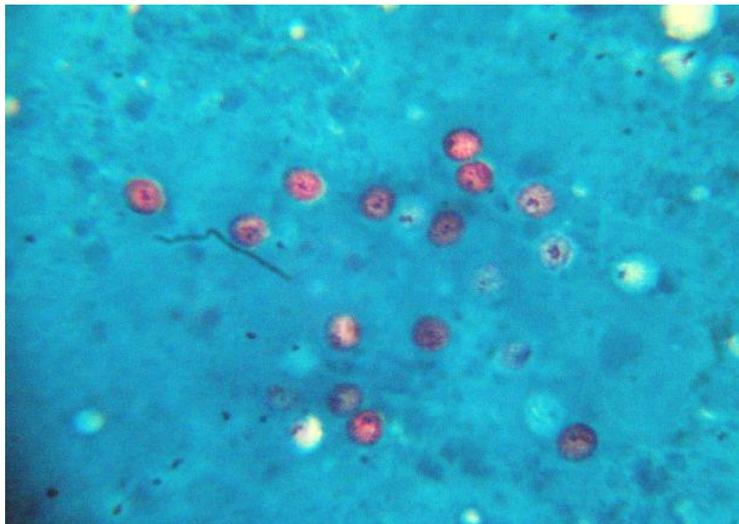


Photo 7 : Cryptosporidies colorées par la méthode de Ziehl-Neelsen (photo personnelle)

3.9.1. Chez le poulet

Le tableau 11 montre les différentes dimensions obtenues à partir de 26 lames positives issues de trachées et de 37 lames provenant de cloaques. Concernant la trachée, 9 lames contiennent des oocystes de dimensions moyennes, de 6,2 x 4,6, et un rapport longueur/largeur égal à 1,34. Sept lames présentent des oocystes mesurant 6,1 x 4,5 et un rapport longueur/largeur de 1,35. Quant aux 13 autres lames, elles se situent à 6,3 x 4,6, avec un rapport longueur/largeur égal à 1,36.

Tableau 11 : Mesure des oocystes et espèce correspondante chez le poulet

Organe	Nombre de lames	Mesures de l'oocyste (μ)	Longueur / largeur	Fourchette OIE (μ)	Espèce suspectée
Trachée	9	6,2 x 4,6	1,34	5,6-6,3 x 4,5-4,8	<i>C. baileyi</i>
	7	6,1 x 4,5	1,35		
	13	6,3 x 4,6	1,36		
Cloaque	9	6,4 x 4,7	1,36	5,6-6,3 x 4,5-4,8	<i>C. baileyi</i>
	21	6,3 x 4,6	1,36		
	7	6,2 x 4,5	1,37		

Pour ce qui est du cloaque, 37 lames positives au parasite sont mesurées, donnant 9 lames établies à 6,4 x 4,7, avec un rapport longueur/largeur de 1,36, et 21 lames avec des dimensions de 6,3 x 4,6 et un rapport égal à 1,36. Enfin, 7 lames renferment des oocystes mesurant 6,2 x 4,5 donnant un rapport de 1,37. Les dimensions, aussi bien que les rapports longueur/largeur, correspondent aux valeurs usuelles fournies par l'OIE (2005) pour *Cryptosporidium baileyi*.

3.9.2. Chez la dinde

Le tableau 12 montre les différentes mesures obtenues à partir de 41 lames positives issues d'iléons de dindes, dont 9 avec des moyennes de 5,9 x 4,9 et un rapport longueur/largeur de 1,2, et 14 lames dont les mesures des oocystes sont de 5,8 x 4,7, soit un rapport de 1,23, correspondant aux dimensions des oocystes de *C. meleagridis*.

Quant aux 6 lames restantes, leurs dimensions sont de 6,2 x 4,6 et un rapport égal à 1,34, ce qui correspond aux oocystes de *C. baileyi*.

Tableau 12 : Mesure des oocystes et espèces suspectées chez la dinde

Prélèvement	Nb de lames	Dimensions (μ)	Longueur/largeur	Fourchette OIE (μ)	Espèce suspectée
Iléon	9	5,9 x 4,9	1,20	4,5-6 x 4,2-5,3	<i>C. meleagridis</i>
	14	5,8 x 4,7	1,23	4,5-6 x 4,2-5,3	<i>C. meleagridis</i>
	6	6,2 x 4,6	1,34	5,6-6,3 x 4,5-4,8	<i>C. baileyi</i>
Fientes	13	6,0 x 4,9	1,22	4,5-6 x 4,2-5,3	<i>C. meleagridis</i>
	10	5,9 x 4,8	1,22	4,5-6 x 4,2-5,3	<i>C. meleagridis</i>
	9	6,2 x 4,6	1,34	5,6-6,3 x 4,5-4,8	<i>C. baileyi</i>

Pour les fientes diarrhéiques issues des animaux vivants (élevages de dindes), 13 lames montrent des oocystes mesurant 6,0 x 4,9, et un rapport longueur/largeur de 1,22, et dix autres lames présentent des dimensions de 5,9 x 4,8, avec un rapport longueur/largeur de 1,22, mesures correspondant à celles de *C. meleagridis*.

Enfin, 9 lames se situent à 6,2 x 4,6, donnant un rapport longueur/largeur égal à 1,23, compatibles avec les mesures fournies par l'OIE (2005) pour *C. baileyi*.

3.10. Lésions

3.10.1. Macroscopiques

Les principales lésions digestives observées chez les animaux positifs à *Cryptosporidium* sont représentées par une entérite catarrhale avec distension intestinale par un contenu liquide blanchâtre ou jaunâtre à grisâtre (photos 8 et 9).

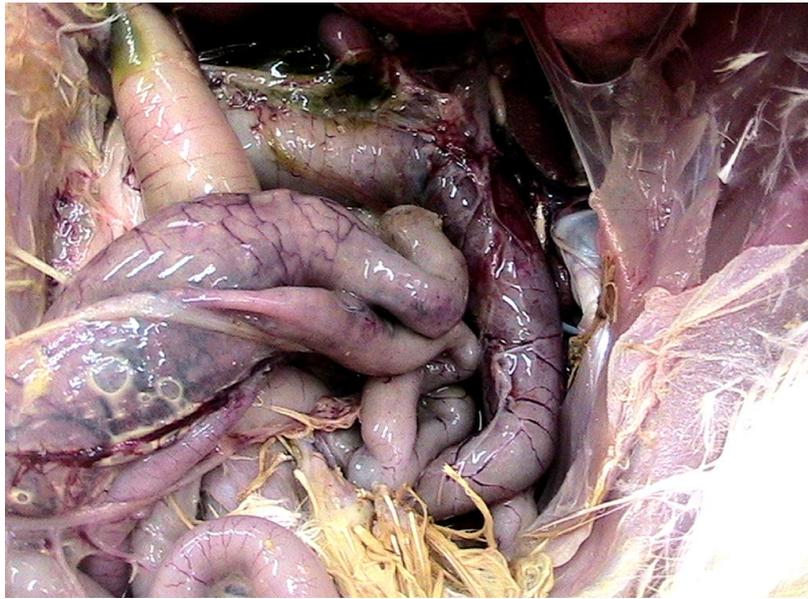


Photo 8 : Entérite et distension intestinale (photo personnelle)



Photo 9 : Entérite et typhlite chez la dinde (photo personnelle)

Le caecum est dilaté et rempli par un liquide grisâtre à brunâtre, mousseux (photo 10) (Fletcher *et al.*, 1982 ; Goodwin et Brown, 1989 ; Whiteman et Bickford, 1989 ; Zylan *et al.*, 2008).



Photo 10 : Caeca de dinde remplis de liquide mousseux (photo personnelle)

3.10.2. Histologiques

L'histologie montre la présence du parasite dans les cellules épithéliales, avec les différents stades d'évolution dans la cellule hôte. Les lésions les plus fréquemment observées sur les oiseaux atteints (dindes et poulets) sont celles décrites classiquement par divers auteurs (Fletcher *et al.*, 1982 ; Goodwin *et al.*, 1990). Il s'agit principalement d'atrophie villositaire, disparition des microvillosités, hypertrophie des cryptes glandulaires et infiltration de la *lamina propria* par des cellules inflammatoires (photos 11 et 12). D'autres lésions non spécifiques, hémorragiques notamment, sont aussi rencontrées.

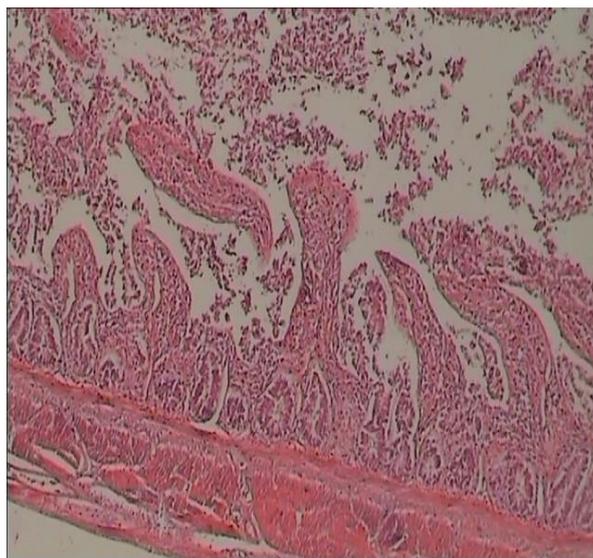


Photo 11 : Villosités atrophiques et infiltration lymphoïde de l'iléon (photo personnelle)



Photo 12 : Cryptosporidies et infiltration de la bourse de Fabricius (photo personnelle)

4. Discussion

4.1. Méthode de prélèvement

4.1.1. Élevages

Les prélèvements sont réalisés au hasard, sans échantillonnage préalable, en prenant soin de ne choisir que les sujets vivants, ou morts depuis peu, car certaines des techniques de mise en évidence du parasite ne peuvent être utilisées au-delà de quelques heures : six heures pour l'histopathologie.

Les bâtiments de provenance des poulets et des dindes sont ciblés en fonction de la disponibilité des éleveurs ou de la sollicitation de ceux-ci pour diagnostiquer les affections sévissant au sein de leur élevage.

Les deux types de logement, conventionnel et sous serre, sont choisis afin de déterminer l'interférence entre l'hygiène et le taux d'infection cryptosporidienne. En effet, les hangars les moins bien tenus de ce point de vue sont ceux qui ne répondent pas aux normes, l'hygiène étant habituellement un corolaire du respect des règles de construction. De plus, l'isolation, élément déterminant dans l'obtention d'une ambiance adéquate pour les poussins, est irréalisable dans une construction sous serre.

L'élevage des dindes est plus délicat que celui des poulets de chair ; ce sont des animaux sensibles à l'humidité, au froid et au déséquilibre alimentaire. Pourtant la grande majorité des dindes est élevée dans des bâtiments non conventionnels, qui peuvent contenir jusqu'à 2.000 oiseaux qui passent toute leur vie dans ces hangars surchargés, sombres et où l'environnement est appauvri. La surcharge est telle que lorsque les dindes atteignent leur poids d'abattage, on peut à peine apercevoir le sol. De plus, les dindes élevées intensivement sont contraintes de vivre sur une litière qui bien souvent devient humide et sale et produit un gaz à très forte odeur d'ammoniac. Or celle-ci a un rôle important dans l'élevage et sa dégradation peut occasionner l'apparition de troubles respiratoires et locomoteurs. Il n'est donc guère surprenant que beaucoup d'oiseaux souffrent de problèmes digestifs et respiratoires. Certaines dindes sont élevées dans des serres avec des fenêtres. Ces hangars ont donc un éclairage et une ventilation naturels. Toutefois, en règle générale, là aussi les oiseaux sont confinés dans des densités importantes, dans un environnement toujours très appauvri.

4.1.2. Prélèvements

Les organes prélevés sont ceux décrits par la plupart des auteurs comme lieux d'élection privilégiés des cryptosporidies des oiseaux : iléon, cloaque, bourse de Fabricius et trachée. À localisation préférentiellement intestinale, les cryptosporidies sont, en effet, également

retrouvées au niveau de l'appareil respiratoire (Hoerr *et al.*, 1978 ; Brady *et al.*, 1984 ; Ma *et al.*, 1984 ; O' Donoghue *et al.*, 1987), de la vésicule biliaire (Pitlik *et al.*, 1983 ; Gross *et al.*, 1986), des canaux pancréatiques (Kovatch et White, 1972 ; Hawkins *et al.*, 1987) et de la bourse de Fabricius (Randall, 1982 ; Fletcher *et al.*, 1975).

4.2. Techniques de laboratoire utilisées

4.2.1. Technique de Ritchie

De nombreuses techniques de flottation existent et celle décrite par Weber *et al.* (1992) est la plus utilisée en laboratoire pour la recherche d'oocystes dans les selles des humains. Cependant, cette technique est assez lourde et essentiellement réalisée dans des laboratoires de référence possédant un matériel relativement sophistiqué car cet auteur associe une technique de flottation au sucrose à une mise en évidence des oocystes par coloration à l'auramine-phénol ou en immunofluorescence (Chartier *et al.*, 2002).

La méthode de Ritchie, par contre, est une technique classique de concentration des œufs de parasites, nécessitant peu de moyens. Ce procédé permet d'augmenter la sensibilité de la recherche des formes kystiques et des œufs.

Les formes végétatives ne peuvent plus être mises en évidence après concentration, ce qui permet de ne détecter que ce qui est recherché, c'est-à-dire les oocystes pour ce qui concerne notre étude.

4.2.2. Coloration de Ziehl-Neelsen

Au départ, le diagnostic de l'infection était fondé sur la démonstration de l'organisme dans les coupes histologiques. Henriksen et Pohlenz (1981) ont étudié une coloration différentielle de l'organisme dans les frottis, en utilisant des techniques couramment utilisées dans le laboratoire de bactériologie et découvert que les techniques d'acido-résistance convenaient pour différencier les teintes. La technique de coloration de Ziehl-Neelsen a été la première technique de coloration à être utilisée régulièrement dans ce sens. La technique repose sur le principe que les oocystes peuvent être colorés avec la fuchsine et conservent le colorant pendant l'étape de décolorisation par l'alcool. Diverses autres méthodes de coloration directe ont été développées, telles que celle à l'Auramine-O (Casemore *et al.*, 1985).

Parmi les nombreuses modifications de la technique de Ziehl-Neelsen, celle proposée par Henriksen et Pohlenz (1981) est devenue la méthode de référence pour la détection des oocystes de *Cryptosporidium*. Elle colore environ 60% des oocystes présents dans un

échantillon microscopique (Lechat *et al.*, 1987), ce qui est suffisant lorsqu'on recherche la présence et non la quantification des parasites.

Dans notre étude, tout prélèvement présentant au moins une cryptosporidie est considéré comme positif. La coloration de Zielh-Neelsen est donc tout à fait en adéquation avec les objectifs assignés à l'enquête.

4.3. Anatomopathologie et histologie

Cryptosporidium spp. sont à l'origine d'infections intestinales fréquentes chez le poulet de chair. La cryptosporidiose à *C. baileyi* est une maladie de 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 un moindre degré. La cryptosporidiose à *C. baileyi* du poulet n'entraîne pas de lésions graves ou de signes manifestes de la maladie. L'atrophie des villosités, le raccourcissement des microvillosités et l'élimination des entérocytes sont les modifications pathologiques majeures associées à la maladie, lésions observées dans la plupart des échantillons positifs de notre étude.

La cryptosporidiose respiratoire à *C. baileyi* du poulet peut entraîner une morbidité élevée et occasionnellement de la mortalité. La maladie est associée à du reniflement et de la toux, suivis par une extension de la tête pour faciliter la respiration (Goodwin *et al.*, 1987). Cependant, la concomitance possible, et fréquente, avec d'autres agents pathogènes ne permet pas de distinguer l'effet de l'un ou l'autre de ces agents. C'est pourquoi il a fallu rechercher la destruction des cils et l'hyperplasie, l'épaississement de la muqueuse et l'élimination d'un exsudat mucocellulaire dans les voies aérifères, modifications pathologiques majeures associées à la maladie du poulet de chair (Current, 1997). La cryptosporidiose à *C. baileyi* de la dinde est similaire à celle du poulet.

La cryptosporidiose à *C. meleagridis* est une maladie iléale de la dinde et d'autres volailles, et de l'homme. Elle peut provoquer une diarrhée sévère, souvent observée lors de notre enquête. L'atrophie des villosités, l'hyperplasie des cryptes et le raccourcissement des microvillosités sont les modifications pathologiques majeures à rechercher afin de les associer à la maladie (Current, 1997).

La cryptosporidiose à *C. galli* est une maladie du poulet et de la caille (Antunes *et al.*, 2008). À la différence du cycle évolutif de *C. meleagridis* et de *C. baileyi*, les stades du cycle se développent dans les cellules épithéliales du proventricule.

Des cryptosporidioses respiratoires et intestinales ont été signalées chez la caille élevée industriellement, dues à une espèce non parfaitement décrite (*Cryptosporidium* sp.) dont les

oocystes sont plus petits que ceux de *C. baileyi* et ne sont pas infectants pour le poulet et la dinde. Les modifications pathologiques sont similaires à celles décrites pour les cryptosporidioses respiratoires et intestinales du poulet à *C. baileyi* (Current, 1997).

4.4. Dimension des oocystes

La morphologie est un composant important du diagnostic parasitologique. Ni les techniques de coloration ni celles de fluorescence ne peuvent déterminer les espèces de cryptosporidies si les dimensions des oocystes sont comprises entre 4 et 6 µm (OIE, 2005).

Habituellement, deux espèces infectent le poulet et la dinde (*C. baileyi* et *C. meleagridis*) et une troisième espèce non nommée infecte la caille (*Cryptosporidium* sp.). *C. galli*, parasite du proventricule, est moins fréquemment retrouvé (Antunes *et al.*, 2008 ; Da Silva *et al.*, 2010) et surtout décrit chez les passereaux, plus rarement chez le poulet (Pavlassek, 1999, 2001).

Pour de nombreuses espèces de *Cryptosporidium*, les dimensions et la forme des oocystes sont similaires, rendant très difficile, voire impossible, l'identification spécifique basée sur la morphométrie au microscope optique en raison du chevauchement des dimensions.

Les oocystes de *C. galli* (8,0 - 8,5 x 6,2 - 6,4 µm) sont plus grands que ceux de *C. baileyi* et de *C. meleagridis*. Les fourchettes fournies par l'OIE (2005) donnent les mesures suivantes :

- 5,6-6,3 x 4,5-4,8 µ pour *C. baileyi*
- 4,5-6,0 x 4,2-5,3 µ pour *C. meleagridis*
- 8,0-8,5 x 6,2-6,4 µ pour *C. galli*.

Il est ainsi difficile de différencier *C. baileyi* de *C. meleagridis* sur la seule base de la dimension des oocystes. L'espèce affectée, ainsi que leur localisation dans l'organisme, peuvent cependant être d'un certain intérêt pour aider à les distinguer, ce qui est expérimenté dans cet essai.

4.5. Discussion des résultats

4.5.1. Prévalence globale de l'infection dans les élevages

Pendant de nombreuses années, la cryptosporidiose aviaire a été considérée comme une maladie opportuniste. Cependant, les nouvelles données indiquent que cette maladie parasitaire est un problème grave dans le secteur de la volaille (de Graaf *et al.*, 1999). La cryptosporidiose est très répandue dans les élevages de poulets (Sréter et Varga, 2000), ce qui est le cas dans notre étude puisque 41,1% des sujets examinés présentent l'infection. Le pouvoir pathogène des cryptosporidies augmente lorsque coexiste l'infection par des agents

immunosuppresseurs ou des voies respiratoires, ou lorsque les oiseaux sont vaccinés contre d'autres pathogènes (de Graaf *et al.*, 1999).

Sur les 297 sujets examinés, 122 hébergent des cryptosporidies, ce qui représente une prévalence globale de 41,1%. La prévalence chez la dinde est supérieure à celle retrouvée chez le poulet (46,2% vs 38,7%), probablement en raison de la durée de vie économique plus courte chez ce dernier. Ces prévalences sont plus importantes que celles trouvées aux USA par Woodmansee *et al.* (1988) chez la dinde, 33,8% par examen coproscopique, au Maroc par Kichou *et al.* (1996), 24% chez le poulet, en utilisant la microscopie, et en Italie par Floretti *et al.* en 1991 (26,7%). En Corée, Rhee *et al.* (1991) retrouvent seulement 15% de poulets positifs, en utilisant la technique de flottation de Sheather, la technique de coloration de Kinyoun modifiée et la coloration acide de Giemsa. Ces différences, parfois très grandes, montrent l'importance de la présence des cryptosporidies dans les élevages de la région étudiée, due principalement au non respect des normes d'élevage et au climat, favorable à la survie du parasite du fait de la chaleur combinée à une humidité relativement importante.

Nos résultats sont, par contre, 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 URSS par Pavlasek *et al.* (1989), avec un taux d'infection compris entre 38 et 100%.

Dans un autre contexte, la preuve sérologique de l'infection à *Cryptosporidium* est trouvée dans 88% des poulets testés en Écosse (Tzipori et Campbell, 1981) et chez 30% des poulets aux États-Unis (Snyder *et al.*, 1988). Ceci démontre l'ubiquité de ces agents puisque les épreuves sérologiques révèlent le passage et non la présence effective du parasite à l'intérieur de l'hôte. Cette ubiquité est vraisemblablement révélée dans notre étude par des conditions hygiéniques et sanitaires favorables à l'infection.

Jusqu'à 27% des poulets excrètent des oocystes de *Cryptosporidium* pour Ley *et al.* (1988), et 6,4% des recherches histologiques de laboratoire révèlent un diagnostic microscopique de cryptosporidiose pour Goodwin et Brown (1988). Dans cette dernière enquête, *Cryptosporidium* est le deuxième protozoaire le plus communément retrouvé lors d'infections diagnostiquées histologiquement chez les poulets.

Cette grande dispersion des résultats obtenus dans les différentes études, y compris la présente enquête, peut avoir diverses explications :

- Les résultats concernent différentes espèces d'oiseaux et de classes d'âge non comparables. Les jeunes oiseaux sont plus réceptifs à l'infection cryptosporidienne et montrent donc des prévalences plus élevées.

- Les données proviennent de méthodes d'analyse différentes : examens histologiques, coprologiques ou même sérologiques, qui peuvent être plus ou moins révélatrices de l'impact réel de l'infection.
- Certaines analyses font suite à une manifestation clinique dans un élevage (c'est le cas de la majorité des analyses histologiques), d'autres ont comme but d'enquêter sur la prévalence des cryptosporidies dans les élevages. Dans notre cas, les oiseaux ne sont sacrifiés que lors de suspicion de maladie.
- Les effectifs d'animaux examinés sont très variables, de quelques dizaines à plusieurs milliers, avec des densités importantes pour ces derniers, ce qui peut avoir un impact sur la transmission du parasite.
- Les conditions hygiéniques et climatiques sont très différentes d'une région à une autre, voire d'un élevage à un autre. L'ubiquité de ces parasites est, dans cette mesure, déterminante. Les prévalences obtenues dans la présente étude peuvent être considérées comme relativement élevées, les commentaires suivants détaillant les différents paramètres intervenant dans ces résultats.

4.5.2. Prévalence par tranche d'âge

La variation des prévalences observées dans les différentes classes d'âge des poulets et des dindes décrit une courbe parabolique (figure 7).

Ces résultats sont similaires à ceux de nombreuses études, entre autres ceux rapportés par Kichou *et al.* (1996) qui observent la maladie chez les animaux âgés de 26 à 50 jours, et ceux obtenus par Goodwin et Brown (1988) chez des poulets âgés entre 17 et 52 jours. En effet, l'infection à *Cryptosporidium* spp. survient chez les jeunes poulets âgés de moins de 11 semaines et la maladie n'a jamais été rapportée chez les animaux adultes (Itakura *et al.*, 1984 ; Fayer et Ungar, 1986).

L'examen révèle l'existence d'une différence significative entre les différentes catégories d'âge, avec une incidence élevée chez les poulets âgés entre 21 et 30 jours (75,7% en moyenne) pour le poulet, et entre 21 et 40 jours (76%) pour la dinde. De nombreux auteurs aboutissent à des résultats similaires (Goodwin et Brown, 1988 ; Ley *et al.*, 1988).

Kichou *et al.* (1996) ne retrouvent pas de cryptosporidies chez les sujets âgés entre 1 et 26 jours. Ils expliquent ces résultats par l'immunité passive des animaux qui possèdent probablement des taux d'anticorps maternels contre *Cryptosporidium* suffisants pour contrecarrer l'infection à cet âge. Ce n'est pas le cas dans la présente étude puisque, aussi bien dans les deux espèces aviaires, des taux d'infection relativement élevés sont retrouvés chez les

très jeunes oiseaux, particulièrement chez la dinde : 12,5% des animaux âgés entre 1 et 10 jours et 50% des sujets âgés de 10 à 20 jours hébergent des cryptosporidies. Chez le poulet, aux mêmes âges, 9 et 49% des poussins, respectivement, sont porteurs de cryptosporidies. La cryptosporidiose est connue comme maladie des jeunes mais non néonatale. La présence des parasites dans l'environnement des animaux à très jeune âge est généralement l'indice d'une mauvaise désinfection et d'une conduite sanitaire défailante. Cependant, les cryptosporidies sont très résistantes dans le milieu extérieur et peu de substances sont efficaces pour détruire leurs oocystes (Bryant *et al.*, 1992).

D'après Rose et Slifko (1999), ce protozoaire est un des microorganismes les plus difficiles à détruire par les désinfectants usuels. La majorité de ceux qui sont utilisés couramment pour décontaminer les locaux n'ont pas d'efficacité sur les oocystes, même lorsqu'ils sont appliqués sur des périodes de temps très longues et à de fortes concentrations (Pokorny *et al.*, 2002). Seuls une exposition à des températures élevées (1 minute à 72°C ou 5 minutes à 64°C) (Lindsay et Zajac, 2004 ; Derouin *et al.*, 2002) ou un contact prolongé à de l'ammoniaque 5% ou du formol 10% (Barr, 1997 ; Derouin *et al.*, 2002) détruisent les oocystes. Ces méthodes ne sont pas utilisées en désinfection classique. Seules les unités d'élevage de grande importance utilisent l'eau chaude en première intention.

4.5.3. Variation en fonction des méthodes d'analyse

L'examen histologique est pratiqué sur la trachée, la bourse de Fabricius, l'iléon et le proventricule tandis que les frottis sont réalisés uniquement sur la trachée et l'intestin.

À l'analyse des résultats obtenus par les différentes méthodes, il est relevé des disparités importantes entre ceux obtenus à l'histologie et ceux observés sur frottis, nonobstant le site d'infection. Des différences comparables, 81,5 et 85% pour le poulet et la dinde respectivement, sont observées entre ces deux techniques.

Sur les sections histologiques, les formes schizogoniques et sexuées présentent une faible coloration à la technique d'Henriksen et Pohlens, contrairement aux stades finaux qui arborent une tonalité plus nette et correspondent aux oocystes. Ces derniers sont observés tantôt accolés à la surface de l'entérocyte tantôt en dehors de celle-ci. Une fois que leur maturation est achevée, ceux-ci se détachent de leurs sites respectifs et se retrouvent ainsi libérés dans la lumière de l'organe infecté et entremêlés avec les constituants du contenu intestinal, ce qui permet de les détecter plus aisément. Cependant, en général la sensibilité de cette technique est faible, d'où, en raison de leur petite taille et de leur rareté dans certains

échantillons, les oocystes peuvent être ignorés ou confondus avec des cellules de levure (De Waal, 2012), ce qui peut engendrer des résultats par excès ou par défaut.

Les matières fécales de dinde sont positives dans 27,3% des cas, bien moins que les résultats obtenus par l'histologie ou l'examen des frottis. Ces différences sont cependant cohérentes vu que les fèces sont récoltées sur parquet correspondant à un ensemble d'animaux et représentent donc la moyenne approximative d'un cheptel, tandis que les organes ne sont prélevés que sur des animaux morts ou malades et sacrifiés en vue d'une autopsie. Cela indique que les cryptosporidies se retrouvent principalement chez des oiseaux affaiblis, que ces parasites soient responsables primaires de l'affection ou présents en tant qu'agents de surinfection (Gati, 1992 ; Huang *et al.*, 2003 ; Ma *et al.*, 1984 ; Morgan *et al.*, 2000 ; Rhee *et al.*, 1998 ; Umemiya *et al.*, 1989).

4.5.4. Fréquence des localisations de *Cryptosporidium*

L'iléon est l'organe le plus fréquemment infecté par les cryptosporidies, quelle que soit l'espèce animale considérée. La dinde présente une différence plus importante entre les localisations digestive (54,3%) et respiratoire (22,5%). *C. meleagridis*, dont l'hôte habituel est la dinde, est connu pour présenter un tropisme intestinal alors que *C. baileyi* se développe au niveau de la bourse de Fabricius, du cloaque, de l'intestin et de la trachée et provoque principalement des symptômes respiratoires (Goodwin *et al.*, 1987). Or *C. baileyi* est plus rarement retrouvé chez la dinde (Blagburn *et al.*, 1987 ; Current, 1986 ; Hoerr *et al.*, 1987 ; Lindsay *et al.*, 1987b).

La bourse de Fabricius représente la deuxième localisation préférentielle chez le poulet, soit une fréquence de 47,5%. La trachée, quant à elle, ne représente que 23,9% de l'ensemble des cas examinés. Itakura *et al.* (1984) rapportent que les organes les plus souvent atteints par *Cryptosporidium* spp. sont la bourse de Fabricius (85%), le tractus respiratoire (41%) et l'intestin (11%), observations très éloignées des résultats obtenus dans notre étude.

À partir des résultats concernant l'iléon, *C. meleagridis* pourrait être considéré comme le principal agent d'infection, parmi les cryptosporidies, dans les élevages étudiés. Par ailleurs, *C. meleagridis* est principalement retrouvé chez le dindon ; sa présence exclusive chez cette espèce animale, considérée comme son hôte habituel, est fréquente (Gharagozlou *et al.*, 2006). Cependant, 47,5% des bourses de Fabricius de poulets hébergent des cryptosporidies. Cet organe étant une cible privilégiée de *C. baileyi*, la conclusion précédente devient délicate à soutenir pour cette espèce animale. Les infections mixtes existent tant chez les animaux (Maikai *et al.*, 2011) que chez l'homme (Xiao et Feng, 2007). Chez le poulet, Wang *et al.*

(2011) ont signalé, par des techniques moléculaires, des cas d'infections mixtes chez un même individu avec *C. baileyi* et *C. meleagridis*. Il importe alors que les systèmes d'identification et de sous-typage des espèces soient capables de les identifier afin de porter un diagnostic exact et des informations fiables (OIE, 2008). De même, l'existence possible de *C. baileyi* au niveau de l'intestin grêle, au même titre que *C. meleagridis* (Xiao *et al.*, 2004), fait que des cas d'infections mixtes peuvent exister au sein d'un même individu, ce qui expliquerait certains des cas retrouvés dans notre étude. La présence de ces cas au sein d'un même élevage aggrave la cryptosporidiose qui va se manifester à la fois par un syndrome respiratoire pour *C. baileyi* et digestif pour *C. meleagridis*. L'association de ces deux syndromes est en effet signalée par plusieurs auteurs (Itakura *et al.*, 1984 ; Kichou *et al.*, 1996), mais sans déterminer les espèces en cause.

4.5.5. Fréquence des localisations en fonction de la méthode d'analyse

Les bourses de Fabricius ne sont pas concernées par cette étude comparative car prélevées uniquement chez le poulet et examinées exclusivement à l'histologie, ce qui a permis de révéler 47,5% de positivité chez cette espèce.

Pour les autres sites d'infection, les résultats obtenus par les deux méthodes, histologie et examen des frottis, sont très différents. Cette différence est plus importante à l'examen des iléons qu'à celui des trachées, pour les deux espèces animales étudiées. Ainsi, hormis la différence minime (23 vs 27,4%) observée pour les trachées de poulets, les écarts sont particulièrement importants entre les résultats obtenus à l'examen des frottis et à l'histologie. Cette variation est retrouvée par d'autres auteurs (Kichou *et al.*, 1996 ; Tzipori et Campbell, 1981) mais à des degrés moindres.

L'histopathologie est habituellement utilisée afin de confirmer les cas positifs aux techniques rapides et rechercher de nouveaux individus porteurs de *Cryptosporidium* non dépistés provenant d'un même élevage reconnu positif, et étudier les lésions associées. Ceci suggère que l'histologie serait une technique plus sensible. Pour Kichou *et al.* (1996), l'histopathologie a permis de confirmer la présence du parasite au niveau de 40 bourses parmi les 41 positives à l'auramine-O. Ceci fait de l'histologie la méthode de choix pour la détection de *Cryptosporidium* au niveau de la bourse et de la trachée. Cependant, au niveau de l'intestin, seule la technique cytologique de coloration à l'auramine-O a permis la détection de *Cryptosporidium* spp. (Kichou *et al.*, 1996). Ceci pourrait être expliqué par le fait que les prélèvements ont été effectués au niveau de l'iléon, portion rapportée comme le site préférentiel de *Cryptosporidium* dans le tube digestif (Chermette *et al.*, 1989) alors qu'il est

possible qu'au moment du prélèvement, le parasite se situait à un niveau plus antérieur, jéjunum, voire duodénum (Goodwin, 1989), et par conséquent *Cryptosporidium* serait plus difficile à retrouver dans la muqueuse iléale. Ceci suggère la recherche de *Cryptosporidium* au niveau de plusieurs parties du tube digestif pour des études ultérieures.

4.5.6. Variation de la fréquence en fonction de la saison

Statistiquement, la saison n'a pas d'influence significative sur la prévalence de l'infection bien que les taux observés soient trois fois moins importants durant la saison estivale. À l'opposé de nos résultats, Goodwin et Brown (1988) observent une incidence de l'infection à *Cryptosporidium* plus faible durant les mois d'hiver en Géorgie, USA. Curieusement, les explications invoquées par ces auteurs incluent les modes d'élevage et des pratiques de biosécurité non optimales, ainsi que des facteurs environnementaux et climatologiques locaux. Ces remarques, probablement liées à la présence du parasite et non à l'effet de la saison, sont valables pour notre étude. D'après Current et Garcia (1991), la prévalence serait plus élevée pendant les mois les plus chauds et les plus humides.

Dans les régions objets de notre étude, la plupart des éleveurs évitent la période estivale lorsqu'ils ne possèdent pas les installations et le matériel adéquats : bâtiment conforme, système de pad-cooling, etc. Ainsi, seuls les élevages respectant un tant soit peu les normes zootechniques et sanitaires demeurent en activité, ce qui expliquerait la diminution de la prévalence de l'infection cryptosporidienne durant l'été.

4.5.7. Influence du type de bâtiment d'élevage

Lors de notre étude, la variation la plus significative, parmi les paramètres étudiés, est observée entre les deux types de bâtiment considérés.

Le type de bâtiment d'élevage, envisagé ici en tant que mode d'élevage, joue en effet un rôle fondamental dans la qualité de l'atmosphère régnant autour des animaux. Les facteurs de stress les plus importants au cours de l'élevage sont d'ordres physique (bruits), climatiques (température, humidité), sociaux (contact avec les congénères et les manipulateurs, densité élevée), comportementaux (manque d'exercice, compétition aux abreuvoirs et mangeoires) et environnementaux (confrontation avec des événements nouveaux) (Hartung, 2006 ; Broom, 2003). Le microclimat présent dans le bâtiment d'élevage est un des facteurs les plus importants à prendre en compte. En effet, un microclimat inadapté à la physiologie des animaux peut provoquer un stress thermique. Beaucoup d'éléments sont nécessaires pour le définir et l'évaluer, de nombreux facteurs entrant en jeu dans l'apparition de ce stress et dans

la réaction des oiseaux. Au-delà de la menace que peut constituer ce stress pour le bien-être des animaux, il est aussi important de noter que les facteurs climatiques peuvent fragiliser les oiseaux, augmenter le risque de dispersion de maladie et les risques sanitaires. Or il est difficile de maintenir des conditions climatiques optimales dans une construction sous serre. Les résultats obtenus dans cette étude (58 vs 11% pour le poulet et 35 vs 8% pour la dinde) indiquent bien que les conditions sanitaires et zootechniques sont déterminantes dans l'apparition et la transmission de l'infection cryptosporidienne, comme de tout autre type d'infection. L'infection à *Cryptosporidium* permet d'expliquer l'origine de certains cas de diarrhée dans l'élevage, dont l'étiologie était jusque-là inconnue, et qui ne cèdent à aucun traitement classique.

4.5.8. Région d'étude

La région de Boumerdes présente des taux de positivité supérieurs à ceux obtenus dans celle d'Alger. Les explications possibles seraient relatives à la densité des élevages de volailles dans cette wilaya, considérée en effet comme une région avicole. L'aviculture est une activité prédominante dans la région ; elle est pratiquée par plus de 1.500 aviculteurs dont 400 sont structurés, selon la chambre d'agriculture de Boumerdes. La différence de prévalence de l'infection cryptosporidienne entre les deux régions d'étude serait ainsi liée, au moins pour une part, à cette capacité d'élevage. D'après Mawdsley *et al.* (1995), les activités d'élevage à l'origine de fortes concentrations de bétail constituent une source potentielle de *Cryptosporidium* dans l'environnement. Les activités agricoles sont elles aussi responsables de la présence de cryptosporidies dans le milieu car les eaux de ruissellement emportent des effluents provenant des excréments d'animaux domestiques épandus, et peuvent ainsi de retrouver dans les eaux de forage, fréquemment utilisées en élevage avicole.

4.5.9. Dimensions des oocystes

4.5.9.1. Chez le poulet

Les valeurs retrouvées sont comprises dans la fourchette des données de référence OIE (2005) pour les critères morphométriques concernant l'espèce de cryptosporidie isolée des lieux d'infection étudiées chez le poulet, *Cryptosporidium baileyi*. Chez le poulet, ce parasite est fréquemment retrouvé dans l'ensemble de ces sites de prédilection (trachée, cloaque et bourse de Fabricius), ce qui est le cas dans notre étude. Les mensurations correspondent à ce qui est relaté par plusieurs auteurs pour ce qui est de *C. baileyi* isolé à partir de ces mêmes organes (Lindsay *et al.*, 1989 ; Gati, 1992 ; Taylor *et al.*, 2008). Plusieurs auteurs signalent que la

cryptosporidiose du poulet se manifeste le plus souvent sous une forme respiratoire (Itakura *et al.*, 1984 ; Goodwin *et al.*, 1996 ; Kichou *et al.*, 1996). Par ailleurs, selon ces mêmes auteurs, *C. baileyi* est retrouvé systématiquement dans le cloaque et la bourse de Fabricius, et ce quelle que soit la voie d'inoculation, orale, conjonctivale ou respiratoire. Cette particularité est probablement due à une ingestion des sécrétions respiratoires ou conjonctivales (Lindsay et Blagburn, 1986). La cryptosporidiose à *C. baileyi* est une maladie de l'épithélium de la bourse de Fabricius et du cloaque du poulet, sans lésions graves, parfois sans signes cliniques. Par contre, la cryptosporidiose respiratoire à *C. baileyi* du poulet peut entraîner une morbidité élevée et quelque mortalité qui devient importante s'il y a association avec d'autres pathogènes.

Certains oocystes ont des dimensions dépassant les moyennes de référence mais qui n'atteignent pas celles de *C. galli*, troisième espèce d'importance chez les oiseaux, décrite pour la première fois par Pavlasek (2004), localisée au niveau du proventricule, avec des dimensions de 8,5-8,0 x 6,2-6,4, nettement plus grandes que *C. baileyi*.

Du point de vue de la santé publique, *C. baileyi* peut, dans certaines conditions particulières, se transmettre à l'homme (Ditrich *et al.*, 1991 ; Euzeby, 2002).

4.5.9.2. Chez la dinde

Les résultats concernant la dinde montrent des valeurs qui sont dans la fourchette des données de référence OIE pour les critères morphométriques pour les deux espèces habituellement isolées des lieux d'infection étudiées chez la dinde (Lindsay *et al.*, 1989 ; Gati, 1992 ; Taylor *et al.*, 2008). Cette localisation entraîne une pathologie digestive parfois grave dans l'élevage. Il est à noter que le dindon est l'hôte de référence de *Cryptosporidium meleagridis*, soupçonné d'être à l'origine d'épisodes d'entérite chez les oiseaux (Mosele, 1998). La cryptosporidiose à *C. meleagridis* est une maladie iléale de la dinde et d'autres volailles, ainsi que l'homme. Les résultats des mesures qui correspondent à *C. baileyi*, retrouvées dans les prélèvements de l'iléon et des fientes, témoignent du fait que cette espèce affecte les volailles en causant une forme respiratoire associée à un syndrome intestinal avec diarrhée et faible mortalité (Euzeby, 1987). La cryptosporidiose à *C. baileyi* de la dinde, bien que plus rare chez cette espèce animale, est similaire à celle du poulet (OIE, 2005).

En raison de leurs grandes similitudes morphométriques, il est difficile de distinguer entre les oocystes de *Cryptosporidium meleagridis* et ceux de la quatrième espèce des galliformes, *Cryptosporidium* sp. du colin de Virginie, en se basant sur la morphologie, car ce dernier se trouve dans la fourchette 4,5-6,0 x 3,6-5,6, avec un rapport longueur/largeur de 1,00-1,63.

Alors que *C. meleagridis* peut se transmettre à la caille, les études de transmission indiquent que le parasite infectant les colins de Virginie est vraisemblablement une espèce spécifique et bien distincte (Mosele, 1998). La caille ne fait pas l'objet de notre étude.

Pour ce qui est de la santé humaine, *Cryptosporidium meleagridis* est un agent de zoonose. Il est décrit chez des patients immunocompétents, ses oocystes sont indiscernables de ceux de *C. parvum* par les méthodes classiques (OIE, 2005). Ces deux espèces constituent la menace zoonotique la plus significative.

Ce travail montre que toutes les mensurations donnent des valeurs qui sont dans la fourchette des données de référence OIE pour les deux principales espèces isolées à partir des différents organes étudiés. Ceci confirme la fiabilité de cette méthode pour le diagnostic précoce et de routine de cette parasitose, aussi bien du vivant de l'animal que sur cadavre, et permet en outre de poser un diagnostic rapide, de suspicion, de la cryptosporidiose à *C. meleagridis* et à *C. baileyi*.

4.5.10. Lésions macroscopiques

Dans le présent travail, *Cryptosporidium* est le seul parasite recherché. Or, en pathologie digestive, l'infection est souvent multifactorielle, ce qui explique la non-spécificité des lésions digestives observées, du fait que les oiseaux peuvent être le plus souvent affectés à la fois par plusieurs agents. De même, il est difficile d'attribuer la diarrhée observée chez les poulets aux cryptosporidies car l'infection du tractus intestinal par *Cryptosporidium* n'est pas toujours accompagnée de signes cliniques (Randall, 1982 ; Itakura *et al.*, 1985). Néanmoins, le parasite peut être seul pathogène, comme il peut être un agent de surinfection. Ceci est démontré par divers travaux chez les oiseaux et chez les mammifères. Pour Whiteman et Bickford (1989), *Cryptosporidium* est à l'origine de troubles digestifs qui, cependant, ne peuvent pas être considérés comme spécifiques car d'autres agents pathogènes de l'intestin sont également présents. Dans le même contexte, Goodwin (1988) signale la cryptosporidiose intestinale avec présence d'*Eimeria* et de bactéries, mais sans préciser l'espèce. Un autre cas d'atteinte de l'intestin grêle (Goodwin, 1988) décrit des animaux faibles, souffrant d'une diarrhée liquide, verdâtre, avec croissance interrompue, mais d'autres agents pathogènes sont présents (*Eimeria*, colibacilles, maladie de Marek) et le rôle des cryptosporidies en tant que cause de la maladie est incertain. Gharagozlou et Khodashenas (1985) signalent des cas d'entérite cryptosporidienne sur des poulets atteints d'une sévère diarrhée chronique, sans qu'aucun autre agent pathogène n'ait été retrouvé.

En général, chez le dindon tout comme chez le poulet, les interférences entérocoles les plus souvent rapportées sont celles avec les virus : hépatite virale et réovirus (Wages et Ficken, 1988), les parasites : *Eimeria tenella* (Awadala *et al.*, 1994), *Hexamitia* (Cooper *et al.*, 2004) et les bactéries : salmonelles, *C. perfringens* (Euzeby, 1987 ; Zylan *et al.*, 2006). Enfin, une étude en Espagne (Pagés-Mante *et al.*, 2007) montre que *C. meleagridis* peut être seul pathogène et responsable d'épidémie, caractérisée par un syndrome digestif et respiratoire, avec une forte mortalité (50%) et une morbidité de 70%.

Du point de vue macroscopique, les lésions retrouvées, avec présence de cryptosporidies au niveau du tube digestif, que ce soit chez le poulet ou chez le dindon, correspondent globalement à celles décrites par plusieurs auteurs : entérite catarrhale, dilatation de l'intestin grêle par les liquides et les gaz ; le caecum est aussi dilaté par des liquides mousseux (Fletcher *et al.*, 1982 ; Goodwin et Brown, 1989 ; Whiteman et Bickford, 1989 ; Zylan *et al.*, 2008). Les mêmes constatations sont faites pour les lésions observées par Ozkul et Aydin (1994) dont l'hyperhémie, la présence de liquide et de gaz au niveau de la lumière intestinale. Les lésions caecales sont le plus souvent associées, comme rapporté par plusieurs auteurs (Slavin, 1955 ; Goodwin, 1988) et observé lors de notre étude.

D'autres lésions, spécifiques à d'autres pathologies, sont retrouvées, avec la présence du parasite, telles celles liées à la coccidiose ou à la colibacillose. En effet, l'interférence avec les pathogènes majeurs est souvent décrite chez les deux volatiles. Ozkul et Aydin (1994) retrouvent, dans la cryptosporidiose intestinale, un examen microbiologique positif aux colibacilles.

Concernant l'atteinte trachéale, dans les élevages de volailles où l'infection cryptosporidienne est observée associée à des problèmes respiratoires, d'autres agents pathogènes sont souvent mis en évidence, ce qui n'est pas le cas dans notre étude puisque seules les cryptosporidies sont recherchées. L'affinité de *C. baileyi* pour les cellules épithéliales du tractus respiratoire a été expérimentalement démontrée après inoculation par voies intra-trachéale ou intra-péritonéale (Current *et al.*, 1986 ; Lindsay et Blagburn, 1990).

Dans cette étude, l'objectif principal porte sur l'identification expérimentale de *Cryptosporidium*. Les autres agents n'ont pas fait l'objet d'une recherche complémentaire au laboratoire. Le diagnostic est donc établi sur une base lésionnelle, dont certaines peuvent être, sinon pathognomoniques, du moins spécifiques, par exemple la colibacillose qui se caractérise par la triade lésionnelle "aérosacculite-péricardite-périhépatite".

4.5.11. Lésions microscopiques

Les lésions histologiques observées sont celles classiquement décrites avec la présence du parasite sur les cellules épithéliales. L'atrophie des villosités, l'hyperplasie des cryptes et le raccourcissement des microvillosités sont les modifications pathologiques majeures associées (OIE, 2005). Ces lésions témoignent de la pathogénicité des cryptosporidies causant des altérations épithéliales qui sont probablement le résultat soit d'atteinte directe de la cellule épithéliale de l'hôte, soit de perturbations indirectes causées après recrutement de cellules et de cytokines pro-inflammatoires, soit des deux effets associés. Le résultat final serait la diarrhée (Certad, 2008). Notre étude concerne des animaux morts ou moribonds, avec un taux d'isolement qui est de 50 à 75% des sujets prélevés au sein d'un même élevage. Tous ces faits constituent des arguments valables pour confirmer la pathogénicité du parasite bien que les autres agents n'aient pas été recherchés.

Plusieurs auteurs signalent que la cryptosporidiose du poulet se manifeste le plus souvent sous une forme respiratoire, avec présence systématique dans le cloaque et la bourse de Fabricius (Itakura *et al.*, 1984 ; Current *et al.*, 1986 ; Goodwin *et al.*, 1996 ; Kichou *et al.*, 1996), ce qui rejoint les résultats de la présente étude.

Conclusion

La cryptosporidiose chez les volailles existe en Algérie avec une prévalence qui semble importante. Dans les élevages étudiés, celle-ci est de 38,7% chez le poulet et de 46,2% chez le dindon. La maladie est particulièrement présente dans les élevages où les conditions d'hygiène sont médiocres.

Ce travail a permis de démontrer l'importance des cryptosporidies dans les élevages de volailles. Ceci laisse supposer que ces parasites sont soit des pathogènes primaires qui initient la pathologie chez les oiseaux, soit des agents de surinfection. Ainsi, la localisation au niveau de la bourse de Fabricius, fréquente avec *C. baileyi*, entraîne une immunodépression favorable au développement d'autres pathogènes. 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 qu'elle implique (Kichou *et al.*, 1996). De même, une immunodépression passagère due aux agents, même vaccinaux (cas de la maladie de Gumboro) profite au parasite qui se développe en conséquence, en aggravant alors les lésions. Plusieurs études soutiennent cette hypothèse (Abassi *et al.*, 1997). En revanche, 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. De plus, certaines lésions classiques de maladies chez la volaille sont aussi présentes dans le cas de la cryptosporidiose. Par exemple, l'aérosacculite rencontrée dans les mycoplasmoses est aussi engendrée par *C. baileyi*.

Plusieurs travaux de recherche comportant des modèles expérimentaux ont permis de vérifier la pathogénicité des cryptosporidies, ainsi que la concomitance et la synergie d'action avec plusieurs virus, bactéries, parasites, champignons, aggravant la cryptosporidiose. Cependant, les études concernant ces interférences dans le cas d'infections naturelles sont encore insuffisantes pour comprendre les mécanismes de synergie, qui demeurent encore obscures.

La forme respiratoire chez les poulets est souvent accompagnée de la forme intestinale. Dans ces formes mixtes, des analyses plus fines, telles que les méthodes de biologie moléculaire, seraient indiquées afin de rechercher la présence de plus d'une espèce de cryptosporidie. Il est en effet admis que des parasites différents sont à l'origine des formes respiratoire et digestive. Enfin, quelques conclusions sont apparues lors de cette étude, dont certaines sont partagées par nombre d'auteurs :

- La méthode du frottis est apparemment plus performante que l'histopathologie pour le diagnostic de routine. La coloration des selles permet un diagnostic rapide mais peu spécifique de l'infection cryptosporidienne, et devrait donc être complétée par une méthode de sensibilité et de spécificité plus accentuées.
- L'arrêt des anticoccidiens ne semble pas avoir un impact sur la fréquence de l'infection puisque dans certains des élevages enquêtés, des anticoccidiens sont régulièrement utilisés, ce qui ne modifie pas les résultats des analyses.
- D'autres études sont nécessaires pour identifier les espèces cryptosporidiennes en cause et étendre à d'autres types d'élevage.
- Une recherche systématique du parasite devrait être entreprise dans tous les cas de diarrhée rebelle à tout traitement.

Du point de vue de l'aspect zoonotique, *C. parvum* et *C. hominis* sont responsables de plus de 90% des cas humains de cryptosporidiose dans la plupart des pays étudiés, le reste étant attribué à *C. meleagridis*, *C. canis* et *C. felis*. Cependant, certaines régions, en particulier les pays en développement, présentent une prévalence élevée de ces espèces inhabituelles (Xiao et Feng, 2008). À Lima (Pérou) et Bangkok (Thaïlande), *C. meleagridis* est aussi répandu chez les humains que *C. parvum*, responsable de 10 à 20% des cas de cryptosporidiose humaine (Gatei *et al.*, 2002 ; Cama *et al.*, 2007 et 2008). Cet aspect n'est pas considéré dans la présente étude pour des raisons logistiques mais devrait être pris en compte dans d'éventuelles études ultérieures.

Références bibliographiques

- Akiyoshi DE, Dilo J, Pearson C, Chapman S, Tumwine J, Tzipori S, 2003.** Characterization of *Cryptosporidium meleagridis* of human origin passed through different host species. *Infect. Immun.* 71 : 1828-1832.
- Akiyoshi DE, Feng X, Buckholt MA, Widmer G, Tzipori S, 2002.** Genetic analysis of a *Cryptosporidium parvum* human genotype 1 isolate passed through different host species. *Infect. Immun.* 70 : 5670-5675.
- Anderson BC, 1986.** Effect of drying on the infectivity of cryptosporidia-laden calf feces for 3- to 7-day-old mice. *Am. J. Vet. Res.* 47 (10) : 2272-2273.
- Anderson DR, Duszynski DW, Marquardt WC, 1968.** Three new coccidia (Protozoa : Telosporae) from king snakes, *Lampropeltis* spp. in Illinois, with a redescription of *Eimeria zamenis* Phisalix. *J. Parasitol.* 54 : 577-581.
- Antunes RG, Simões DC, Nakamura AA, Meireles MV, 2008.** Natural infection with *Cryptosporidium galli* in canaries (*Serinus canaria*), in a cockatiel (*Nymphicus hollandicus*), and in lesser seed-finches (*Oryzoborus angolensis*) from Brazil. *Avian Dis.* ; 52 (4) : 702-5.
- Barker IK, Carbonell PL, 1974.** *Cryptosporidium agni* sp.n. from lambs, and *Cryptosporidium bovis* sp.n. from a calf, with observations on the oocyst. *Z. Parasitenkd.* 44 : 289-298.
- Barr F, 1997.** Cryptosporidiosis. *J. Small Anim. Pract.* 38 (7) : 319-320
- Bearup AJ, 1954.** The coccidia of carnivores of Sydney. *Aust. Vet. J.* 30 : 185-186.
- Bird RG, 1981.** Protozoa and viruses. Human cryptosporidiosis and concomitant viral enteritis, p. 39-47. In Canning EU (ed.), Parasitological topics. Allen Press, Lawrence, Kans.
- Blackman MJ, Bannister LH, 2001.** Apical organelles of Apicomplexa : biology and isolation by subcellular fractionation. *Mol. Biochem. Parasitol.* 117 : 11-25.
- Blagburn BL, Lindsay DS, Giambrone JJ, Sundermann CA, Hoerr FJ, 1987.** Experimental Cryptosporidiosis in broiler chickens. *Poul. Sci.* 66 : 442-449.
- Blagburn BL, Lindsay DS, Hoerr FJ, Atlas AL, Toivio-Kinnucan M, 1990.** *Cryptosporidium* spp. infection in the proventriculus of an Australian diamond firetail finch (*Staganoplura bella*, Passeriformes, Estrildidae). *Avian Dis.* 34 : 1027-1030.
- Blagburn BL, Lindsay DS, Hoerr FJ, Davis JF, Giambrone JJ, 1991.** Pathobiology of cryptosporidiosis (*C. baileyi*) in broiler chickens. *J. Protozool.* 38 : 25-28.
- Brady E, Margolis ML, Korzeniewski OM, 1984.** Pulmonary cryptosporidiosis in acquired immune deficiency syndrom. *J. Am. Med. Assoc.* 252 : 89-90.

- Broom DM, 2003.** Causes of poor welfare in large animals during transport. *Veterinary Research Communication*. 27 (1) : 515-518.
- Bryant EA, Fulton GP, Budd GC, 1992.** Disinfection alternatives for safe drinking water. Van Nostrand Reinhold, New York. 3 p.
- Cama VA, Bern C, Roberts J, Cabrera L, Sterling CR, Ortega Y, Gilman RH, Xiao L, 2008.** Cryptosporidium species and subtypes and clinical manifestations in children, Peru. *Emerging Infectious Diseases*. 14 : 1567-1574.
- Cama VA, Ross JM, Crawford S, Kawai V, Chavez-Valdez R, Vargas D, Vivar A, Ticona E, Navincopa M, Williamson J, Ortega Y, Gilman RH, Bern C, Xiao L, 2007.** Differences in clinical manifestations among *Cryptosporidium* species and subtypes in HIV-infected persons. *J. Infect. Dis.* 196 : 684-691.
- Cardozo SV, Teixeira Filho WL, Lopes CW, 2005.** Experimental transmission of *Cryptosporidium baileyi* (Apicomplexa : Cryptosporidiidae) isolated of broiler chicken to Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Braz. J. Vet. Parasitol.* 14 : 119-124.
- Certad G, 2008.** De la caractérisation génétique et phénotypique de *Cryptosporidium* (Alveolata : Apicomplexa) à la mise en évidence du rôle de *C. parvum* dans l'induction de néoplasie digestive. Thèse Doctorat en Sciences. Université de Lille 2. 196 p.
- Chartier C, Mallereau-Pellet MP, Mancassola R, Nussbaum D, 2002.** Détection des oocystes de *Cryptosporidium* dans les fèces de caprins : comparaison entre un test d'agglutination au latex et trois autres techniques conventionnelles. *Vet. Res.* 33 : 169-177
- Chermette R, Boufassa-Ouzrout S, 1988.** Cryptosporidiose : une maladie animale et humaine cosmopolite. Série Tech. n°5. 2^{ème} édition. *Ed. Off. Int. Epizoo.* 127.
- Chermette R, Tarnau C, Boufassa-Ouzrout S, Couderc O, 1989.** Survey on equine cryptosporidiosis in Normandy. Coccidia and intestinal coccidiomorphs. Vth International Coccidiosis Conference Tours, France. 493-498.
- Clarke JJ, 1995.** A study of coccidia in mice. *J. Microscop. Soc.* 37 : 277-302.
- Current WL, 1986.** The life cycle of *Cryptosporidium baileyi* (Apicomplexa, Cryptosporidiidae) infecting chickens. *Journal of Protozoology.* 33 : 289-296.
- Current WL, 1990.** Technique and laboratory maintenance of *Cryptosporidium*. *In* : Cryptosporidiosis of man and animals (Ed. Dubey JP, Speer CA, Fayer R). CRC. Press. Boston : 31-50.
- Current WL, 1997.** Cryptosporidiosis. *In* : Diseases of Poultry, Tenth Edition, Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW, McDougald LR et Saif YM eds. Mosby-Woolfe, Mosby International, Lynton House, 7-12 Tavistock Square, London WC1H 9LB, UK. 883-890.

- Current WL, Garcia LS, 1991.** Cryptosporidiosis. *Clin. Microbiol. Rev.* 4 (3) : 325-358.
- Current WL, Reese NC, 1986.** A comparison of endogenous development of three isolates of *Cryptosporidium* in Suckling mice. *J. Protozool.* 33 : 98-108.
- Current WL, Snyder DB, 1988.** Development and serologic evaluation of acquired immunity to *Cryptosporidium baileyi* by broiler chickens. *Poult. Sci.* 67 : 720-729.
- Current WL, Upton SJ and Haynes TB, 1986.** The life cycle of *Cryptosporidium baileyi* n. sp. (Apicomplexa, Cryptosporidiidae) infecting chickens. *J. Protozool.* 33 : 289-296.
- Da Silva DC, Homem CG, Nakamura AA, Teixeira WF, Perri SH, Meireles MV, 2010.** Physical, epidemiological, and molecular evaluation of infection by *Cryptosporidium galli* in Passeriformes. *Parasitol Res.* 107 (2) : 271-277.
- Darabus G, Olariu R, 2003.** The homologous and interspecies transmission of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium meleagridis*, *Pol. J. Vet. Scien.* 6 : 225-228.
- De Graaf DC, Vanopdenbosch E, Ortega-Mora LM, Abassi H, Peeters JE, 1999.** A review of the importance of cryptosporidiosis in farm animals. *Int. J. Parasitol.* 29 : 1269-1287.
- De Waal T, 2012.** Advances in diagnosis of protozoan diseases. *Vet. Parasitol.* 189 : 65-74.
- Derouin F, Eliaszewicz M, Pouillot R, Roze S, 2002.** Rapport sur les infections à protozoaires liées aux aliments et à l'eau : Évaluation scientifique des risques associés à *Cryptosporidium* sp. AFSSA [<http://www.afssa.fr/Documents/Eaux-RaCrypto.pdf>]
- Dhillon AS, Thacker HI, Dietzel AV, Winterfield RW, 1981.** Respiratory cryptosporidiosis in broiler chickens. *Avian Dis.* 25 : 747-751.
- Dhillon AS, Thacker HL, Dietzel AV, Winterfield RW, 1994.** Respiratory cryptosporidiosis in broiler chickens. *Parasitology.* 109 : 19-22.
- Ditrich O, Palkovic L, Sterba J, Prokopic J, Loudova J, Giboda, 1991.** The first finding of *Cryptosporidium baileyi* in man. *Parasitol. Res.* 77 : 44-47.
- Dubey JP, Pande BP, 1963.** Observations on the coccidian oocysts from Indian jungle cat (*Felis chaus*). *Int. J. Microbiol.* 3 : 103-108.
- Duszynski DW, 1969.** Two new coccidia (Protozoa : Eimeriidae) from Costa Rican lizards with a review of the *Eimeria* from lizards. *J. Protozool.* 16 : 581-585.
- Elliot DA, Clark DP, 2000.** *Cryptosporidium parvum* induces host cell actin accumulation at the host-parasite interface. *Infect. Immunol.* 68 : 2315-2322.
- Euzeby J, 1987.** Caractère généraux des Apicomplexa. Protozoologie médicale comparée, volume II. Fondation Marcel Mérieux. Lyon. 84-100.
- Euzeby J, 2002.** La cryptosporidiose humaine. *Bull. Acad. Nle Méd.* 186 (5) : 837-850.

- Fayer R, 2005.** Provide genetic and biological evidence for *Cryptosporidium bovis* n. sp, which previously been referred to as genotype B and infects older ruminants. This parasite was apparently first reported by Panciera *et al.*, 1971. *Vet. Pathol.* 8 : 479-484.
- Fayer R, 2009.** Taxonomy and species delimitation in *Cryptosporidium*. *Exp. Parasitol.* 124 : 90-97
- Fayer R, Leek RG, 1984.** The effects of reducing conditions, medium, ph, temperature, and time on in vitro excystation of *Cryptosporidium*. *J. Protozool.* 31 : 567-569.
- Fayer R, Morgan UM, Upton SJ, 2000.** Epidemiology of *Cryptosporidium* : Transmission, detection and identification. *Int. J. Parasitol.* 30 : 1305-1322.
- Fayer R, Santin M, 2009.** *Cryptosporidium xiaoi* n. sp. (Apicomplexa : Cryptosporidiidae) in sheep (*Ovis aries*). *Vet. Parasitol.* 164 : 192-200.
- Fayer R, Santín M, Trout JM, 2008.** *Cryptosporidium ryanae* n. sp. (Apicomplexa : Cryptosporidiidae) in cattle (*Bos taurus*) *Vet. Parasitol.* 156 (3-4) : 191-198
- Fayer R, Speer CA et Dubey JP, 1990.** General biology of *Cryptosporidium*. In : *Cryptosporidiosis of Man and Animals* (Ed. Dubey JP, Speer CA et Fayer R) CRC Press. Boston. 1-30.
- Fayer R, Speer CA, Dubey JP, 1997.** The general biology of *Cryptosporidium*, In : Fayer R (ed.), *Cryptosporidium and cryptosporidiosis*. CRC Press, Inc. Boca Raton, Fla. 1-42
- Fayer R, Trout JM, Xiao L, Morgan UM, Lal AA, Dubey JP, 2001.** *Cryptosporidium canis* n.sp. From domestic dogs. *J. Parasitol.* 87 : 1415-1422.
- Fayer R, Ungar BLP, 1986.** *Cryptosporidium* spp. and cryptosporidiosis. *Microbiol. Rev.* 50 (4) : 458-483.
- Fayer R, Ungar BLP, Blagburn B, 1989.** Efficacy of hyperimmune bovine colostrum for prophylaxis of cryptosporidiosis in neonatal calves. *J. Parasitol.* 75 : 393-397.
- Fernandez A, Quezada M, Gomez M.A, Navarro JA, Rodriguez J, Sierra MA, 1990.** Cryptosporidiosis in chickens from southern Spain. *Avian Dis.* 34 : 224-227.
- Fletcher A, Sims TA, Talbot IC, 1982.** Cryptosporidial enteritis without general or selective immunodeficiency. *Br. Med. J.* 285 : 22-23.
- Fletcher OJ, Mannell JF, Page RK, 1975.** Cryptosporidiosis of bursa of Fabricius of chickens. *Avian Diseases.* 19 : 630-639.
- Gardiner CH, Payer R, Dubey JP, 1988.** An Atlas of protozoan parasites in animal tissues, USDA, Agriculture Handbook No. 651, 83 p.
- Gatei W, Suputtamongkol Y, Waywa D, Ashford RW, Bailey JW, Greensill J, Beeching NJ, Hart CA, 2002.** Zoonotic species of *Cryptosporidium* are as prevalent as the

anthroponotic in HIV-infected patients in Thailand. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*. 96 : 797-802.

Gati AE, 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 pour l'obtention du Doctorat de Troisième Cycle, Option : Parasitologie. Faculté des Sciences de l'Université Cadi Ayyad. Marrakech. 82 p.

Gharagozlou MJ, Dezfoulian O, Rahbari S, Bokaie S, Jahanzad I, Razavi ANJ, 2006. Intestinal cryptosporidiosis in turkey in Iran. *J. Vet. Med. A* 53 : 282-285.

Gharagozlou MJ, Khodashenas M, 1985. Cryptosporidiosis in a native rooster with chronic proliferative enteritis. *Arch. Vet. J.* 27 : 129-138.

Gjerde B, 1986. Circumstantial evidence of an extracellular (epicellular) localization of developmental stages of *Cryptosporidium*. *Acta Vet. Scand.* 27 : 629-631.

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

Glisson JR, Brown TP, Brugh M, Page RK, Kleven SH, Davis RB, 1984. Sinusitis in turkeys associated with respiratory cryptosporidiosis. *Avian Dis.* 28 : 783-790.

Goodwin MA et Brown J, 1988. Histologie incidence and distribution of *Cryptosporidium* sp. Infection in chickens: 68 cases in 1986. *Avian Dis.* 32 : 365-369.

Goodwin MA et Brown J, 1989. Light-microscopic lesions associated with naturally occurring bursal cryptosporidiosis in chickens. *Avian Dis.* 33 : 74-78.

Goodwin MA, 1988. Diarrhoea associated with small-intestinal cryptosporidiosis in a chicken. *Avian Diseases.* 32 : 844-848.

Goodwin MA, 1989. Cryptosporidiosis in birds- A review. *Avian Pathol.* 18 (3) : 365-384.

Goodwin MA, 1995. Oesophageal and proventricular cryptosporidiosis in a chicken. *Avian Dis.* 39 : 643-645.

Goodwin MA, Brown J, 1989. Intestinal cryptosporidiosis in chickens. *Avian Dis.* 33 : 770-777.

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

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

Goodwin MA, Brown J, Ressureccion RS, Smith JA, 1996. Respiratory coccidiosis (*Cryptosporidium baileyi*) among Northern Georgia broilers in one company. *Avian Dis.* 40 : 572-575.

Goodwin MA, Latimer KS, Brown J, Steffens WL, Martin PW, Resurreccion RS, Smeltzer MA, Dickson TG, 1987. Respiratory cryptosporidiosis in chickens. *Poult. Sci.* 67 : 1684-1693.

Goodwin MA, Waltman WD, 1994. Clinical and pathological finding in young Georgia broiler chickens with oculofacial respiratory disease. *Avian Dis.* 38 : 376-378.

Graczyk TK, Fayer R, Cranfield MR 1996. *Cryptosporidium parvum* is not transmissible to fish, amphibians, or reptiles. *J. Parasitol.* 85 : 748-751.

Graczyk TK, Cranfield MR 1998. Experimental transmission of *Cryptosporidium* oocyst isolates from mammals, birds and reptiles to captive snakes. *Vet. Res.* 29 : 187-195.

Gross TL, Wheat J, Bartlett M, O'Connor KW, 1986. AIDS and multiple system involvement with *Cryptosporidium*. *Am. J. Gastroenterol.* 81 : 456-458.

Guy JS, Levy MG, Ley DH, Barnes HJ, 1987. Experimental reproduction of enteritis in bobwhite quail (*Colinus virginianus*) with *Cryptosporidium* and *Reovirus*. *Avian. Dis.* 31 : 713-722.

Guyot K, Follet-Dumoulin A, Lelièvre E, Sarfati C, Rabodonirina M, Nevez G, Cailliez JC, Camus D, Dei-Cas E, 2001. Molecular characterization of *Cryptosporidium* isolates obtained from humans in France. *J. Clin. Microbiol.* 39 : 3472-3480.

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

Hampton JC, Rosario B, 1966. The attachment of protozoan parasites to intestinal epithelial cells of the mouse. *J. Parasitol.* 52 : 939-949.

Hartung J, 2006. The new EU animal transport regulation: improved welfare and health or increased administration ? *Dtsch Tierarztl Wochenschr.* 113 (3) : 113-116.

Hawkins SP, Thomas RP, Teasdale C, 1987. Acute pancreatitis : a new finding in *Cryptosporidium* enteritis. *Br. Med. J.* 294 : 483-484.

Henriksen SA, Pohlenz JFL, 1981. Staining of cryptosporidia by a modified Ziehl-Neelsen technique. *Acta Vet. Scand.* 22 : 594-6.

Hoerr FJ, Blagburn BL, Lindsay DS, Giambrone JJ, 1987. Interactions of *Cryptosporidium* with other infectious pathogens in chickens. Proceedings of the 124th Annual Meeting of the American Veterinary Medical Association, Chicago, 134.

- Hoerr FJ, Current WL, Haynes TB, 1986.** Fatal cryptosporidiosis in quail. *Avian. Dis.* 30 (2) : 421-425.
- Hoerr FJ, Ranck FM, Hastings TF, 1978.** Respiratory cryptosporidiosis in turkeys. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 173 : 1591-1593.
- Huang BQ, Chen XM, LaRusso NF, 2004.** *Cryptosporidium parvum* attachment to and internalization by human biliary epithelia in vitro : a morphologic study. *J. Parasitol.* 90 : 212-221.
- Huang K, Akiyoshi DE, Feng XC, Tzipori S, 2003.** Development of patent infection in immunosuppressed C57BL/6 mice with a single *Cryptosporidium meleagridis* oocyst. *J. Parasitol.* 89 : 620-622.
- Hurkova L, Hajdusek O, Modry D, 2003.** Natural infection of *Cryptosporidium muris* (Apicomplexa : Cryptosporiidae) in Siberian chipmunks. *J. Wildl. Dis.* 39 : 441-444.
- Iseki M, 1979.** *Cryptosporidium felis* sp.n. (Protozoa Eimeriorina) from the domestic cat. *Jap. J. Parasitol.* 28 (5) : 285-307.
- Itakura C, Goryo M, Umemura T, 1984.** Cryptosporidial infection in chickens *Avian. Pathol.* 13 : 487-499.
- Itakura C, Nakamura H, Umemura T, Goryo M, 1985.** Ultrastructure of Cryptosporidial cycle in chicken host cells. *Avian. Pathol.* 14 : 237-249.
- Jae-Ran Yu, 2003.** *Cryptosporidium parvum*. Web atlas of medical parasitology. Korean society for parasitology.
- Jex AR, Pangasa A, Campbell BE, Whipp M, Hogg G, Sinclair MI, Stevens M, Gasser RB, 2008.** Classification of *Cryptosporidium* species from patients with sporadic cryptosporidiosis by use of sequence-based multilocus analysis following mutation scanning. *J. Clin. Microbiol.* 46 : 2252-2262.
- Jirku M, Valigurová A, Koudela B, Krížek J, Modry D, Slapeta J, 2008.** New species of *Cryptosporidium* from amphibian host: morphology, biology and phylogeny. *Folia Parasitologia (Praha).* 55 : 81-94
- Kichou F, El-Houadafi M, Jaouzi T, 1990.** Cryptosporidiose de la bourse de Fabricius chez le poulet de chair au Maroc : à propos du premier cas. *Maghreb Vét.* 5 : 5-7.
- Kichou F, Saghir F, El Hamidi M, 1996.** Infection naturelle de *Cryptosporidium* sp. chez le poulet de chair au Maroc. *Avian. Pathol.* 25 : 103-111.
- Kim Y, Howerth EW, Shin NS, Kwon SW, Terrell SP ; Kim DY, 2005.** Disseminated visceral Coccidiosis and cloacal cryptosporidiosis in a Japanese white-naped crane (*Grus vipio*). *J. Parasitol.* 91 : 199-201

- Kopecna J, Jirku M, Obornik M, Tokarev YS, Lukes J, Modry D, 2006.** Phylogenetic analysis of coccidian parasites from invertebrates : search for missing links. *Protist.* 157 : 173-183.
- Koudela B, Modry D, 1998.** New species of *Cryptosporidium* (Apicomplexa *Cryptosporidiidae*) from lizards. *Foulia Parasitol.* 45 : 93-100.
- Kovatch RM, White JD, 1972.** Cryptosporidiosis in two juvenile Rhesus monkeys. *Vet. Pathol.* 9 : 426-440.
- Landsberg JH, Paperna I, 1986.** Ultrastructural study of the coccidian *Cryptosporidium* from stomachs of juvenile cichlid fish. *Dis. Aquat. Organ.* 2 : 13-20.
- Latimer KS, Steffens WL, Rakich PM, Ritchie BW, Niagro FD, Kircher IM, Lukert PD, 1992.** Cryptosporidiosis in four cockatoos with psittacine beak and feather disease. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 200 : 707-710.
- Lechat H, Bajolet O, Poirriez J, Thoannes H, D'Albignac G, Piget D, Pinon JM, 1987.** Techniques de coloration des oocystes de *Cryptosporidium*. *Feuillets de biologie.* 28 (158) : 35-38.
- Leng X, Mosier DA, Oberst RD, 1996.** Differentiation of *Cryptosporidium parvum*, *C. muris* and *C. baileyi* by PCR-RFLP analysis of the 18s rRNA gene. *Vet. Parasitol.* 62 : 1-7.
- Leoni F, Amar C, Nichols G, Pedraza-Diazand S, Mc Lauchlin J, 2006.** Genetic analysis of *Cryptosporidium* from 2414 humans with diarrhea in England between 1985 and 2000. *J. Med. Microbiol.* 55 : 703-707.
- Levine ND, 1961.** Protozoan parasites of domestic animals and of man. Burgess Publishing Co., Minneapolis, Minn. 406 pp.
- Levine ND, 1971.** Uniform terminology for the protozoan subphylum Apicomplexa. *J. Protozool.* 18 : 352-355.
- Levine ND, 1980.** Some corrections of coccidian (Apicomplexa: Protozoa) nomenclature. *J. Parasitol.* 66 : 830-834.
- Levine ND, 1985.** Phylum II. Apicomplexa Levine 1970, 322-374. *In* Lee JJ, Hunter SH and Bovee EC (ed.), An illustrated guide to the protozoa. Society of Protozoologists, Allen Press, Lawrence, Kans.
- Levy MG, Ley DH, Barnes HJ, Geric TM, Corbett WT, 1988.** Experimental cryptosporidiosis and infectious bursal disease virus infection of specific pathogen-free chickens. *Avian. Dis.* 32 : 803-811.

- Ley DH, Levy MG, Hunter L, Corbett WT, Barnes HJ, 1988.** Cryptosporidia-positive rates of avian necropsy assessments determined by examination of auramine O-stained fecal smears. *Avian. Dis.* 32 : 108-113.
- Lim Y, Rohela M, Muhamat Shukri M, 2007.** Cryptosporidiosis among birds and bird handlers at zoo Negara, Malaysia. *South. Asian. J. Med. Public. Health.* 38 : 19-26.
- Lindsay DS, Blagburn BL, 1990.** Cryptosporidiosis in birds. *In* : JP Dubey, CA Speer and Fayer R, Cryptosporidiosis of man and animals, CRC Press, Boca Raton. 125-148.
- Lindsay DS, Blagburn BL, Ernest JA, 1987.** Experimental *Cryptosporidium parvum* infections in chickens. *J. Parasitol.* 73 : 242-244.
- Lindsay DS, Blagburn BL, Hoerr FJ, 1987.** Experimentally induced infections in turkeys with *Cryptosporidium baileyi* isolated from chickens. *Am. J. Vet. Res.* 48 : 104-108.
- Lindsay DS, Blagburn BL, Hoerr FJ, Giambrone JJ, 1987.** Experimental *Cryptosporidium baileyi* infections in chickens and turkeys produced by ocular inoculation of oocysts. *Avian. Dis.* 31 : 355-357.
- Lindsay DS, Blagburn BL, Hoerr SJ, Smith PC, 1991.** Cryptosporidiosis in zoo and pet birds. *J. Protozool.* 38 : 180S-181S.
- Lindsay DS, Blagburn BL, Sundermann CA, 1986.** Host specificity of *Cryptosporidium sp* isolated from chickens. *J. Parasitol.* 72 : 565-568.
- Lindsay DS, Blagburn BL, Sundermann CA, 1989.** Morphometric comparison of the oocysts of *Cryptosporidium meleagridis* and *Cryptosporidium baileyi* from birds. *Proc. Helminthol. Soc. Wash.* 56 : 91-92.
- Lindsay DS, Blagburn BL, Sundermann CA, Ernest JA, 1987.** Chemoprophylaxis of Cryptosporidiosis in chickens, using halofuginone, salinomycin, lasalocid, or monensin. *Am. J. Vet. Res.* 48 : 354-355.
- Lindsay DS, Blagburn BL, Sundermann CA, Hoerr FJ, 1988.** Experimental infections in domestic ducks with *Cryptosporidium baileyi* isolated from chickens. *Avian. Dis.* 33 : 69-73.
- Lindsay DS, Blagburn BL, Sundermann CA, Hoerr FJ, Ernest JA, 1986.** Experimental *Cryptosporidium* infections in chickens : oocyst structure and tissue specificity. *Am. J. Vet. Res.* 47 : 876-879.
- Lindsay DS, Blagburn BL, Sundermann CA, Hoerr FJ, Giambrone JJ, 1987.** *Cryptosporidium baileyi* : effects of intra-abdominal and intravenous inoculation of oocysts on infectivity and site of development in broiler chickens. *Avian Dis.* 31 (4) : 841-3.

- Lindsay DS, Upton SJ, Owens DS, Morgan UM, Mead JR, Blagburn L, 2000.** *Cryptosporidium andersoni* n.sp. (Apicomplexa : Cryptosporidiidae) from cattle *Bos taurus*. *J. Eukaryot. Microbiol.* 47 : 91-95.
- Lindsay DS, Zajac AM, 2004.** *Cryptosporidium* infections in cats and dogs. *Compend. Cont. Educ. Pract. Vet.* 26 (11) : 864-874.
- Lumb R, Smith K, O'Donoghue PJ, Lanser JA, 1988.** Ultrastructure of the attachment of *Cryptosporidium* sporozoites to tissue culture cells. *Parasitol. Res.* 74 : 531-536.
- Ma P, Villanueva TG, Kaufman D, Gillooley JF, 1984.** Respiratory cryptosporidiosis in the acquired immunodeficiency syndrome. Use of modified cold Kinyoun and hemacolor strains for rapid diagnoses. *J. Am. Med. Assoc.* 252 : 1298-1301.
- Mansfield LS and Gajadhar AA, 2004.** *Cyclospora cayetanensis*, a food- and waterborne coccidian parasite. *Vet. Parasitol.* 126 : 73-90.
- Marcial MA, Madara JL, 1986.** *Cryptosporidium* : cellular localization, structural analysis of absorptive cell-parasite membrane-membrane interactions in Guinea pigs, and suggestion of protozoa transport by M cells. *Gastroenterology.* 90 : 583-594.
- Mason RW, 1986.** Conjunctival cryptosporidiosis in a duck. *Avian. Dis.* 30 : 598-600.
- Mason RW, Hartley WJ, 1980.** Respiratory cryptosporidiosis in a peacock chick. *Avian. Dis.* 24 : 771-776.
- Mawdsley JL, Bardgett RD, Merry RJ, Pain BF, Theodoru MK, 1995.** Pathogens in livestock waste, their potential for movement through soil and environmental pollution. *Appl. Soil Ecol.* 2 : 1-15.
- McLaughlin J, Amar C, Pedraza-Diaz S, Nichols GL, 2000.** Molecular epidemiological analysis of *Cryptosporidium* spp. in the United Kingdom : results of genotyping *Cryptosporidium* spp. in 1,705 fecal samples from humans and 105 fecal samples from livestock animals. *J. Clin. Microbiol.* 38 : 3984-3990.
- Mead JR, Arrowood MJ, Current WL, Sterling CR, 1988.** Field inversion gel electrophoretic separation of *Cryptosporidium* spp. chromosome-sized DNA. *J Parasitol.* 74 : 366-369.
- Meireles MV, Soares RM, Dos Santos MMAB, Gennari SM, 2006.** Biological studies and molecular characterization of a *Cryptosporidium* isolate from ostriches (*Struthio camelus*). *J. Parasitol.* 92 : 623-626.
- Morgan UM, Fall A, Ward LA, Hijjawi N, 2002.** *Cryptosporidium hominis* n.sp. (Apicomplexa : Cryptosporidiidae) from Homo sapiens. *J. Eukaryot. Microbiol.* 49 (6) : 433-440.

- Morgan UM, Monis PT, Fayer R, Deplazes P, Thompson RCA, 1999.** Phylogenetic relationships amongst isolates of *Cryptosporidium* : evidence for several new species. *J. Parasitol.* 85 : 1126-1133.
- Morgan UM, Monis PT, Xiao L, Limor J, Sulaiman I, Raidal S, O'Donoghue P, Gasser R, Murrey A, Fayer R, Blagburn BL, Lal AA, Thompson RCA, 2001.** Molecular and phylogenetic characterization of *Cryptosporidium* from birds. *Int. J. Parasitol.* 31 : 289-296.
- Morgan UM, Weber R, Xiao L, Sulaiman I, Thompson RCA, Ndiritu W, Lal A, Moore A, Deplazes P, 2000.** Molecular characterization of *Cryptosporidium* isolates obtained from human immunodeficiency virus-infected individuals living in Switzerland, Kenya, and the United States. *J. Clin. Microbiol.* 38 : 1180-1183.
- Morgan UM, Xiao L, Fayer R, Lal AA, Thompson RCA, 1999.** Variation in *Cryptosporidium* : towards a taxonomic revision of the genus. *Int. J. Parasitol.* 29 : 1733-1751.
- Morgan UM, Xiao L, Limor J, Gelis S, Raidal SR, Fayer R, Lal AA, Elliot A, Thompson RCA, 2000.** *Cryptosporidium meleagridis* in an indian ring-necked parrot (*Psittacula krameri*). *Aust. Vet. J.* 78 : 182-183.
- Murphy BG, Bradway D, Walsh T, Sanders GE, Snekvik K, 2009.** Gastric cryptosporidiosis in freshwater angelfish (*Pterophyllum scalare*). *J. Vet. Diagn. Invest.* 21 : 722-727.
- Naciri M, 1987.** Cryptosporidiose : nouveautés bibliographiques et observations personnelles. *Bull. GTV.* 3 : 39-42.
- Naciri M, 1992.** La cryptosporidiose. Importance de la contamination de l'eau. *INRA Prod. Anim.* 5 (5) : 319-327.
- Naciri M, Lacroix S, Laurent F, 2001.** La cryptosporidiose des ruminants (2^{ème} partie) : diagnostic, moyens de lutte et risques pour l'homme. *Act. Vet.* 1543 : 11-18.
- Naciri M, Mancassola R, Répérant JM, Yvove P, 1994.** Analysis of humoral immune response in chickens after inoculation with *Cryptosporidium baileyi* or *Cryptosporidium parvum*. *Avian. Dis.* 38 : 832-838.
- Naciri M, Mazzella O, 1988.** Association cryptosporidiose et maladie de Marek chez des poulets nains. *Rec. Méd. Vét.* 164 : 311-312.
- Naciri M, Mazzella O, Coudert F, 1989.** Interaction cryptosporidies-virus sauvage de la maladie de Marek chez le poulet. *Rec. Méd. Vét.* 162 : 51-56.

- Naciri M, Mazzella O, Coudert F, 1989.** Interactions between Cryptosporidia and pathogenic viruses, Coccidia and Intestinal Coccidiomorphs, Vth International Coccidiosis Conference Tours, France. 235-240.
- Nakamura K, Abe F, 1988.** Respiratory (especially pulmonary) and urinary infections of *Cryptosporidium* in layer chickens. *Avian. Pathol.* 17 : 703-711.
- Nanduri J, Williams S, Aji T, Flanigan TP, 1999.** Characterization of an immunogenic glycocalyx on the surfaces of *Cryptosporidium parvum* oocysts and sporozoites. *Infection and Immunity.* 67 (4) : 2022-2024.
- Nelson JB, O'Hara SP, Small AJ, Tietz PS, Choudhury AK, Pagano RE, Chen XM, LaRusso NF, 2006.** *Cryptosporidium parvum* infects human cholangiocytes via sphingolipid-enriched membrane microdomains. *Cell. Microbiol.* 8 : 1932-1945.
- Ng J, Eastwood K, Durrheim D, Massey P, Walker B, Armson A, Ryan U, 2008.** Evidence supporting zoonotic transmission of *Cryptosporidium* in regional New South Wales. *Exp. Parasitol.* 119 : 192-195.
- Ng J, Pavlasek I, Ryan U, 2006.** Identification of novel *Cryptosporidium* genotypes from avian hosts. *Appl. Environ. Microbiol.* 72 : 7548-7553.
- Nime FA, Burek JD, Page DL, Olscher MA, Yardley JH, 1976.** Acute enterocolitis in a human being infected with protozoan *Cryptosporidium*. *Gastroenterology.* 70 : 592-598.
- O'Brien E, McInnes L, Ryan U, 2008.** *Cryptosporidium* GP60 genotypes from humans and domesticated animals in Australia, North America and Europe. *Exp. Parasitol.* 118 : 118-121.
- O'Donoghue PJ, 1985.** *Cryptosporidium* infections in man, animals, birds and fish. *Aust. Vet. J.* 62 (8) : 253-258.
- O'Donoghue PJ, 1995.** *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis in man and animals. *Int. J. Parasitol.* 25 : 139-195.
- O'Donoghue PJ, Tham UL, Desaram WG, Paull KL, McDermott S, 1987.** *Cryptosporidium* infections in birds and mammals and attempted cross transmission studies. *Vet. Parasitol.* 26 : 1-11.
- O'Hara SP, Huang BQ, Chen XM, Nelson J, LaRusso NF, 2005.** Distribution of *Cryptosporidium parvum* sporozoite apical organelles during attachment to and internalization by cultured biliary epithelial cells. *J. Parasitol.* 91 : 995-999.
- Obornik M, Jirku M, Slapeta JR, Modry D, Koudela B, Lukes J, 2002.** Notes on coccidian phylogeny, based on the apicoplast small subunit ribosomal DNA. *Parasitol. Res.* 88 : 360-363.

- Pancieria RJ, Thomassen RW, Garner FM, 1971.** Cryptosporidial infection in calf. *Vet. Pathol.* 8 : 479-484.
- Papadopoulou C, Xylouri E, Zisides N, 1988.** Cryptosporidial infection in broiler chickens in Greece. *Avian. Dis.* 32 (4) : 842-843.
- Paperna I, Vilenken M, 1996.** Cryptosporidiosis in the gourami *Trichogaster leeri* : description of a new species and a proposal for a new genus, *Piscisryptosporidium*, for species infecting fish. *Diseases of Aquatic Organisms.* 27 : 95-101.
- Pavlasek I, 1999.** Cryptosporidia : biology, diagnosis, host spectrum specificity and the environment. *Klinicka Mikrobiologie a infekcni Lekastvi.* 3 : 290-301.
- Pavlasek I, 2001.** Finding of cryptosporidia in the stomach of chickens and of exotic and wild birds. *Veterinarstvi.* 51 : 103-108.
- Pavlasek I, Kopacka M, Nikitin VF, Kozlova GA, Korovikov SE, 1989.** Cryptosporidiosis in broiler fowls. *Veterinarstvi.* 2 : 39-41.
- Pedraza-Diaz S, Amar C, Iversen AM, Stanley PJ, McLaughlin J, 2001.** Unusual *Cryptosporidium* species recovered from human faeces : first description of *Cryptosporidium felis* and *Cryptosporidium* dog type from patients in England. *J. Med. Microbiol.* 50 : 293-296.
- Pedraza-Diaz S, Amar C, McLaughlin J, Nichols GL, Cotton KM, Godwin P, Iversen AM, Milne L, Mulla JR, Nye K, Panigrahl H, Venn SR, Wiggins R, Williams M, Youngs ER, 2001.** *Cryptosporidium meleagridis* from humans : molecular analysis and description of affected patients. *J. Infect.* 42 : 1-8.
- Pedraza-Díaz S, Amar C, McLaughlin J, 2000.** The identification and characterisation of an unusual genotype of *Cryptosporidium* from human faeces as *Cryptosporidium meleagridis*. *Fems Microbiol. Lett.* 189 : 189-194.
- Peeters J, Villacorta I, 1995.** *Cryptosporidium*. Guidelines on techniques in coccidiosis research. Editors : Eckert J, Braun R, Shirley M.W, Coudert P, Biotechnology Cost 89/820, Report Eur 16602 EN, European commission, Brussels. 202-240.
- Pellerdy LP, 1965.** Coccidia and Coccidiosis. Akademiai Kiado, Publishing house of the Hungarian Academy of Sciences, Budapest. 928 pp.
- Petry F, 2004.** Structural analysis of *Cryptosporidium parvum*. *Microsc. Microanal.* 10 : 586-601.
- Petry F, Harris JR, 1999.** Ultrastructure, fractionation and biochemical analysis of *Cryptosporidium parvum* sporozoites. *Int. J. Parasitol.* 29 (8) : 1249-1260.

- Pieniasek NJ, Bornay-Llinares FJ, Slemenda SB, Da Silva AJ, Moura INS, Arrowood MJ, Ditrich O, Addiss DG, 1999.** New *Cryptosporidium* genotypes in HIV-infected persons. *Emerg. Infect. Dis.* 5 : 444-449.
- Pitlik SD, Fainsten V, Rios A, Guarda L, Mansel PWA, Hersh EM, 1983.** Cryptosporidial cholecystitis. *N. Engl. J. Med.* 308 : 967.
- Plutzer J, Karanis P, 2007.** Molecular identification of a *Cryptosporidium saurophilum* from corn snake (*Elaphe guttata guttata*). *Parasitol. Res.* 101 : 1141-1145.
- Pokorny NJ, Weir SC, Carreno RA, Trevors JT, Lee H, 2002.** Influence of temperature on *Cryptosporidium parvum* oocyst infectivity in river water samples as detected by tissue culture assay. *J. Parasitol.* 88 (3) : 641-643.
- Power ML, Ryan UM, 2008.** A new species of *Cryptosporidium* (Apicomplexa : Cryptosporidiidae) from eastern grey kangaroos (*Macropus giganteus*). *J. Parasitol.* 94 (5) : 1114-1117.
- Proctor SJ, Kemp RL, 1974.** *Cryptosporidium anserinum* n.sp. (Sporozoa) in a domestic goose *Anser anser* L. from Iowa. *J. Protozool.* 21 : 664-666.
- Randall CJ, 1982.** Cryptosporidiosis of the bursa of Fabricius and trachea in broilers. *Av. Pathol.* 11 : 95-102.
- Reid A, Lymbery A, Ng J, Tweedle S, Ryan U, 2009.** Identification of novel and zoonotic *Cryptosporidium* species in marine fish. *Vet. Parasitol.* 168 : 190-195.
- Rhee JK, Jang BG, Park BK, 1995.** Oocyst production and immunogenicity of *Cryptosporidium baileyi* in chickens and mallards. *Korean J. Parasitol.* 33 : 45-54.
- Rhee JK, Seu YS, Park BK, 1991.** Isolation and identification of *Cryptosporidium* from various animals in Korea. *Korean J. Parasitol.* 29 : 139-148.
- Rhee JK, Yang HJ, Kim HC, 1998.** Verification of immunosuppression in chicks caused by *Cryptosporidium baileyi* infection using *Brucella abortus* strain 1119-3, *Korean J. Parasitol.* 36 (4) : 281-284.
- Rose JB, Slifko TR, 1999.** *Giardia*, *Cryptosporidium* and *Cyclospora* and their impact on foods : a review. *J. Food Protect.* 62 (9) : 1059-1070.
- Ryan UM, 2004.** Provide genetic and biological data to support their description of *Cryptosporidium suis* n.sp. For one of the two genotypes of *Cryptosporidium* spp. found in swine. *J. Parasitol.* 90 : 769-773.
- Ryan UM, 2010.** *Cryptosporidium* in birds, fish and amphibians. *Exp. Parasitol.* 124 : 113-120.

- Ryan UM, O'Hara A, Xiao L, 2004.** Molecular and biological characterization of *Cryptosporidium molnari*-like isolate from a guppy (*Poecilia reticulata*). *Appl. Environ. Microbiol.* 70 : 3761-3765.
- Ryan UM, Power M, Xiao L, 2008.** *Cryptosporidium fayeri* n. sp. (Apicomplexa : Cryptosporidiidae) from the Red Kangaroo (*Macropus rufus*). *J Eukaryot Microbiol.* 55 (1) : 22-6.
- Ryan UM, Samarasinghe B, Read C, Buddle JR, Robertson ID, Thompson RC, 2003.** Identification of a novel genotype of *Cryptosporidium* in pigs. *Appl. Environ. Microbiol.* 69 : 3970-3974.
- Ryan UM, Xiao L, 2008.** Avian cryptosporidiosis. In : Fayer R, Xiao L. (Eds.), *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis. CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton. 395-418.
- Ryan UM, Xiao L, Read C, Sulaiman IM, Monis P, Lal AA, Fayer R, Pavlasek I, 2003.** A redescription of *Cryptosporidium galli*. Pavlasek, 1999 (Apicomplexa : Cryptosporidiidae) from birds. *J. Parasitol.* 89 : 809-813.
- Ryan UM, Xiao L, Read C, Zhou L, Lal AA, Pavlasek I, 2003.** Identification of novel *Cryptosporidium* genotypes from the Czech Republic. *Appl. Environ. Microbiol.* 69 : 4302-4307.
- Silim A, Rekik RM, 1992.** Immunologie des oiseaux. In : Manuel de pathologie aviaire. Brugère-Picoux J, Silim A, Ed. Chaire de pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour, École Nationale Vétérinaire d'Alfort. 87-96.
- Sironi G, Rampin T, Burzoni G, 1991.** Cryptosporidiosis in game birds. *Vét. Rec.* 129 : 337-338.
- Šlapeta J, 2009.** Centenary of the genus *Cryptosporidium* : from morphological to molecular species identification. 31-50. In : Ortega-Pierres MG, Caccio S, Fayer R, Mank T, Smith H, Thompson RCA (Eds). *Giardia* and *Cryptosporidium*, CABI Publishing.
- Šlapeta J, Keithly JS, 2004.** *Cryptosporidium parvum* mitochondrial-type HSP70 targets homologous and heterologous mitochondria. *Eukaryotic Cell.* 3 (2) : 483-494.
- Slavin D, 1955.** *Cryptosporidium meleagridis* n sp. *J. Comp. Pathol.* 65 : 262-266.
- Smith MU, Caccio SM, Cook N, Nichols RAB, Tait A, 2007.** *Cryptosporidium* and *Giardia* as foodborne zoonose. *Vet. Parasitol.* 149 : 29-40.
- Snyder DB, Current WL, Russek-Cohen E, Gorham SL, Mallinson ET, Marquardt WW, Savage PK, 1988.** Serologic incidence of *Cryptosporidium* in Delmarva broiler flocks. *Poult. Sci.* 67 (5) : 730-735.

- Sréter T, Kovacs G, Da Silva AJ, Pieniazek NJ, Széll Z, Dobos-Kovacs M, Marialigeti K, Varga I, 2000.** Morphologic, host specificity, and molecular characterization of a Hungarian *Cryptosporidium meleagridis* isolate. *Appl. Environ. Microbiol.* 66 : 735-738.
- Sréter T, Szélla Z, Varga I, 2002.** Anticryptosporidial prophylactic efficacy of enrofloxacin and paromomycin in chickens. *J. Parasitol.* 88 (1) : 209-211.
- Sréter T, Varga I, 2000.** Cryptosporidiosis in birds-a review. *Vet. Parasitol.* 87 : 261-279.
- Sréter T, Varga I, Bekesi L, 1996.** Effects of bursectomy and thymectomy on the development of resistance to *Cryptosporidium baileyi* in chickens. *Parasitol. Res.* 82 : 174-177.
- Sundermann CA, Lindsay DS, Blagburn BL, 1987.** In vitro excystation of *Cryptosporidium baileyi* from chickens. *Protozool.* 34 : 28-30.
- Tarwid JN, Cawthorn RJ, Riddell C, 1985.** Cryptosporidiosis in the respiratory tract of turkeys in Saskatchewan. *Avian. Dis.* 29 : 528-532.
- Telemann W, 1908.** Eine Methode zur Erleichterung der Auffindung von Parasiteneiern in den Faeces. *Dtsch. Med. Wschr.* 34 : 1510-1511.
- Thompson HP, Dooley JS, Kenny J, McCoy M, Lowery CJ, Moore JE, Xiao L, 2007.** Subtypes and subtypes of *Cryptosporidium* spp. in neonatal calves in Northern Ireland. *Parasitol. Res.* 100 : 619-624.
- Traversa D, 2010.** Evidence for a new species of *Cryptosporidium* infecting tortoises : *Cryptosporidium ducismarci*. *Parasit Vectors.* 3 : 21.
- Tsai SS, Ho LF, Chang CF, Chu RM, 1983.** Cryptosporidiosis in domestic birds. *Chinese. J. Microbiology and Immunology.* 16 : 307-313.
- Tyzzar E, 1912.** *Cryptosporidium parvum* (sp. nov.), a coccidium found in the small intestine of the common mouse. *Arch. Protistenkd.* 26 : 394-412.
- Tyzzar EE, 1907.** A sporozoan found in the peptic glands of the common mouse. *Proceedings of the Society for Exp. Biol. and Med.* 5 : 12-13.
- Tyzzar EE, 1910.** An extracellular coccidium, *Cryptosporidium muris* (n. sp.), of the gastric glands of the common mouse. *J. Med. Res.* 23 (3) : 487-510.
- Tyzzar EE, 1929.** Coccidiosis in gallinaceous birds. *Am. J. Hyg.* 10 : 269-383.
- Tzipori S, 1983.** Cryptosporidiosis in animals and humans. *Microbiol. Rev.* 47 : 84-96.
- Tzipori S, 1998.** Cryptosporidiosis : laboratory investigations and chemotherapy. *Adv. Parasitol.* 40 : 187-221.
- Tzipori S, Angus KW, Campbell I, Gray EW, 1980.** *Cryptosporidium* : evidence for a single-species genus. *Infect. Immun.* 30 : 884-886.

- Tzipori S, Campbell I, 1981.** Prevalence of *Cryptosporidium* antibodies in 10 animal's species. *J. Clin. Microbiol.* 14 : 455-456.
- Tzipori S, Griffiths JK, 1998.** Natural history and biology of *Cryptosporidium parvum*. *Adv. Parasitol.* 40 : 5-36.
- Tzipori S, O'Donoghue P, Watkins J, Smith M, Andrews RH, Chilton NB, Upcroft P, Upcroft JA, Morgan U, Thompson RCA, Casemore DP, Widmer G, Gasser RB, Carter DA, Rochelle PA, Jutras EM, De Leon R, Stewart MH, 1999.** Isolation, propagation and characterisation of *Cryptosporidium*. *Int. J. Parasitol.* 29 : 1379- 1413.
- Tzipori S, Rand W, Griffiths J, Widmer G, Crabb J, 1994.** Evaluation of an animal model system for cryptosporidiosis : therapeutic efficacy of paromomycin and hyperimmune bovine colostrum-immunoglobulin. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 1 : 450-463.
- Tzipori S, Ward H, 2002.** Cryptosporidiosis : biology, pathogenesis and disease. *Microb. Infect.* 4 : 1047-1058.
- Tzipori S, Widmer G, 2000.** The biology of *Cryptosporidium*. *Contrib. Microbiol.* 6 : 1-32.
- Umemiya R, Fukuda M, Fujisaki K, Matsui T, 2005.** Electron microscopic observation of the invasion process of *Cryptosporidium parvum* in severe combined immunodeficiency mice. *J. Parasitol.* 91 : 1034-1039.
- Uni S, Iseki M, Maekawa T, Moriya K, Takada S, 1987.** Ultrastructure of *Cryptosporidium muris* (strain RN 66) parasitizing the murine stomach. *Parasitol. Res.* 74 : 123-132.
- Upton SJ, 2000.** Suborder *Eimeriorina* Léger, 1911, p. 318-339. In : Lee JJ, Leedale GF and Bradbury P (ed.), The illustrated guide to the protozoa, 2nd ed. Society of Protozoologists, Allen Press, Lawrence, Kans.
- Van Zeeland YR, Schoemaker NJ, Kik MJ, van der Giessend JW, 2008.** Upper respiratory tract infection caused by *Cryptosporidium baileyi* in three mixed-bred falcons (*Falco rusticolus* x *Falco cherrug*). *Avian Dis.* 52 : 357-363.
- Varga I, Sreter T, Bekesi, 1995.** Potentialisation of ionophorous anticoccidials with duokvin : battery trials against *Cryptosporidium baileyi* in chickens. *J. Parasitol.* 81 : 777-780.
- Vetterling JM, Jervis HR, Merie TG, Spring H, 1971.** *Cryptosporidium wrairi* n sp. from the guinea pig *Caria porcellus* with an emendation of the genus. *J. Protozool.* 18 : 243-247.
- Vetterling JM, Takeuchi A, Madden PA, 1971.** Ultrastructure of *Cryptosporidium wrairi* from the guinea pig. *J. Protozool.* 18 : 248-260.
- Weber R, Bryan RT, Juranek DD, 1992.** Improved stool concentration procedure for detection of *Cryptosporidium* oocysts in fecal suspensions. *J. Clin. Microbiol.*, 30 : 2869-2873.

- Whiteman CE, Bickford AA, 1989.** Avian influenza. *In* : Avian disease Manual, 3rd ed. The American association of avian pathologists, Pennsylvania, USA. 17-21
- Woodmansee DB, Pavlasek I, Pohlenz JFL, Moon HW, 1988.** Subclinical cryptosporidiosis of turkey in Iowa. *J. Parasitol.* 74 : 898-900.
- Xiao L, Bern C, Limor J, Sulaiman I, Roberts J, Checkley W, Cabrera L, Gillman RH, Lal AA, 2001.** Identification of five types of *Cryptosporidium* parasites in children in Lima, Peru. *J. Infect. Dis.* 183 : 492-497.
- Xiao L, Escalante LE, Yang C, Sulaiman IM, Escalante AA, Montali R, Fayer R, Lal AA, 1999.** Phylogenetic analysis of *Cryptosporidium* parasites on the small-subunit ribosomal RNA gene locus. *Appl. Environ. Microbiol.* 65 : 1578-1583.
- Xiao L, Fayer R, Ryan U, Upton SJ, 2004.** *Cryptosporidium* taxonomy : recent advances and implication for public health. *Clin. Microbiol. Rev.* 17 : 72-97.
- Xiao L, Feng Y, 2008.** Zoonotic cryptosporidiosis. *FEMS Immunology and Medical Microbiology.* 52 : 309-323.
- Xiao L, Limor J, Morgan, UM, Sulaiman IM, Thompson RCA, Lal AA, 2000.** Sequence differences in the diagnostic target region of the oocyst wall protein gene of *Cryptosporidium* parasites. *Appl. Environ. Microbiol.* 66 : 5499-5502.
- Xiao L, Morgan UM, Limor J, Escalante A, Arrowood M, Shulaw W, Thompson RCA, Fayer R, Lal AA, 1999.** Genetic diversity within *Cryptosporidium parvum* and related *Cryptosporidium* species. *Appl. Environ. Microbiol.* 65 : 3386-3391.