

République Algérienne Démocratique  
et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur  
et la Recherche Scientifique  
Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
المدرسة الوطنية العليا للبيطرة



## **THESE**

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat Es-Sciences  
En Sciences Vétérinaires

### **Thème :**

**Etude Des Diarrhées à Cryptosporidies Chez Les Veaux de  
Moins De Quatre Mois Dans L'Est  
Algérien : Etude Epidémiologique Des Facteurs de Risques**

**Présenté par : HOCINE Abderrazek**

**Né le : 09/10/1974 à ANNABA**

**Soutenu le :25/06/2019**

### **Les membres du jury :**

|                                       |                                |   |               |
|---------------------------------------|--------------------------------|---|---------------|
| <b>Présidente : Pr. AIT OUDHIA K.</b> | <b>Professeur</b>              | <b>ENSV</b>                             | <b>Alger</b>  |
| <b>Promoteur : Dr. BOUZID R.</b>      | <b>Maitre de conférences A</b> | <b>Université Chadli Ben<br/>Djedid</b> | <b>Eltarf</b> |
| <b>Examinatrice : Dr. AZZAG N.</b>    | <b>Maitre de conférences A</b> | <b>ENSV</b>                             | <b>Alger</b>  |
| <b>Examineur : Dr. ZAGHDOUDI M.</b>   | <b>Maitre de conférences A</b> | <b>Université Chadli Ben<br/>Djedid</b> | <b>Eltarf</b> |

Année universitaire : 2018/2019

République Algérienne Démocratique  
et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur  
et la Recherche Scientifique  
Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
المدرسة الوطنية العليا للبيطرة



## THESE

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat Es-Sciences  
En Sciences Vétérinaires

### Thème :

**Etude Des Diarrhées à Cryptosporidies Chez Les Veaux de  
Moins De Quatre Mois Dans L'Est  
Algérien : Etude Epidémiologique Des Facteurs de Risques**

Présenté par : HOCINE Abderrazek

Né le : 09/10/1974 à ANNABA

Soutenu le : 25/06/2019

### Les membres du jury :

|                                |                         |                                 |        |
|--------------------------------|-------------------------|---------------------------------|--------|
| Présidente : Pr. AIT OUDHIA K. | Professeur              | ENSV                            | Alger  |
| Promoteur : Dr. BOUZID R.      | Maitre de conférences A | Université Chadli Ben<br>Djedid | Eltarf |
| Examinatrice : Dr. AZZAG N.    | Maitre de conférences A | ENSV                            | Alger  |
| Examineur : Dr. ZAGHDOUDI M.   | Maitre de conférences A | Université Chadli Ben<br>Djedid | Eltarf |

Année universitaire : 2018/2019

## *Remerciements*

### *A Messieurs et Mesdames*

*Le Dr. RIAD BOUZID, notre directeur de thèse et frère pour ses efforts et sa disponibilité ; sincères remerciements.*

*Pr. D. KHELLEF pour tout son concours et sa générosité ;  
sincère gratitude.*

*La Pr. K. AIT OUDHIA pour nous avoir fait l'honneur de  
présider notre jury de Thèse ; sincères reconnaissances.*

*A Madame et Monsieur les membres du jury :*

*pour Dr. N. AZAAG et Dr. M. ZEGHEDOU DI avoir jugé notre  
Thèse ; nos profonds respects.*

*A tous ceux qui ont aidé à la réalisation de cette Thèse.*

## DEDICACES

*A mes chers parents, pour le courage, le dévouement et les sacrifices consentis.*

*A MON EPOUSE Monia Pour l'aide et le soutien qu'elle n'a cessé de m'apporter dans les moments difficiles. Je lui dédie ce travail en gage de notre solide union et mon profond respect.*

*A mes deux chers enfants: Younes et Talal pour le bonheur qu'ils me donnent chaque jour, à ma belle sœur.*

*A mes chers beaux-parents.*

*A mes frères et beaux-frères; mes sœurs.*

## TABLE DES MATIERES

### Partie bibliographique

|                             |     |
|-----------------------------|-----|
| <b>I INTRODUCTION</b> ..... | 1-2 |
|-----------------------------|-----|

### II DEFINITION

|  |       |
|--|-------|
| <b>III HISTORIQUE ET PROGRESSION DES IDEES</b> ..... | 4-5-6 |
|--|-------|

|                                   |   |
|-----------------------------------|---|
| <b>IV ETUDE DU PARASITE</b> ..... | 7 |
|-----------------------------------|---|

|  |   |
|--|---|
| 1- Taxonomie et caractéristiques biologiques ..... | 7 |
|--|---|

|                                    |   |
|------------------------------------|---|
| 2- Cycle évolutif du parasite..... | 8 |
|------------------------------------|---|

|   |   |
|---|---|
| 2-1 Etape de mérogonie ou schizogonie ..... | 8 |
|---|---|

|                                |   |
|--------------------------------|---|
| 2-2 Etape de gamétogonie ..... | 9 |
|--------------------------------|---|

|                              |   |
|------------------------------|---|
| 2-3 Etape de sporogonie..... | 9 |
|------------------------------|---|

|   |    |
|---|----|
| 3- Caractéristiques morphologiques des différents stades parasitaires ..... | 10 |
|---|----|

|                       |    |
|-----------------------|----|
| 3-1 Les oocystes..... | 10 |
|-----------------------|----|

|                                    |    |
|------------------------------------|----|
| 3-1-1 Résistance des oocystes..... | 11 |
|------------------------------------|----|

|                          |    |
|--------------------------|----|
| 3-2 Les sporozoïtes..... | 12 |
|--------------------------|----|

|  |       |
|--|-------|
| 3-3 Les mérontes et mérozoïtes de types I et II..... | 12-13 |
|--|-------|

|                            |    |
|----------------------------|----|
| 3-4 Les macrogamontes..... | 14 |
|----------------------------|----|

|   |       |
|---|-------|
| 4- Espèces de cryptosporidies : Voir tableau 2..... | 15-16 |
|---|-------|

|                           |    |
|---------------------------|----|
| <b>V PATHOGENIE</b> ..... | 17 |
|---------------------------|----|

|                                  |    |
|----------------------------------|----|
| <b>VI SIGNES CLINIQUES</b> ..... | 18 |
|----------------------------------|----|

|   |    |
|---|----|
| 1- Diarrhée et douleur abdominale ..... | 19 |
|---|----|

|   |    |
|---|----|
| 2- Déshydratation et perte d'électrolytes ..... | 19 |
|---|----|

|                         |    |
|-------------------------|----|
| 3- Amaigrissement ..... | 19 |
|-------------------------|----|

|  |    |
|--|----|
| <b>VII Etude anatomopathologique</b> ..... | 20 |
|--|----|

|                                |    |
|--------------------------------|----|
| <b>VII EPIDEMIOLOGIE</b> ..... | 21 |
|--------------------------------|----|

|  |    |
|--|----|
| 1- Répartition géographique et prévalence de la maladie..... | 21 |
|--|----|

|                          |    |
|--------------------------|----|
| 2- Espèces présents..... | 21 |
|--------------------------|----|

|   |    |
|---|----|
| 3- Sources potentielles de contamination..... | 22 |
|---|----|

|                                |    |
|--------------------------------|----|
| 3-1 Les jeunes ruminants ..... | 22 |
|--------------------------------|----|

|   |           |
|---|-----------|
| 3-2 Lesmères .....  | 22        |
| 3-3 Animaux adultes.....  | 22        |
| 3-4 Animaux sauvages, rongeurs.....                                       | 22        |
| 3-5 L'eau .....   | 22        |
| 4-Mode de transmission.....   | 23        |
| 5-Les facteurs favorisants.....   | 23        |
| 5-1 - L'espèce.....   | 23        |
| 5-2- La race.....   | 23        |
| 5-3- L'âge.....   | 23        |
| 5-4 - L'état immunitaire .....  | 23        |
| 6-Facteurs de risques liées aux élevages.....                             | 24        |
| 6-1 - Des méthodes de gestion d'élevage .....                             | 24        |
| 6-2-Densité animale .....   | 24        |
| 6-3 - Conduite d'élevage .....  | 24        |
| 6-4 - Le bâtiment d'élevage .....   | 24        |
| 6-5 - Le rôle de l'épandage du fumier .....                               | 25        |
| <b>VIII DIAGNOSTIC.....</b>   | <b>26</b> |
| 1-Diagnostic<br>symptomatologique.....                                    | 26        |
| 2-Diagnostic de laboratoire.....  | 26        |
| 2-1 Les techniques microscopiques.....                                    | 26        |
| 2-1-1. Examen histologique.....   | 26        |
| 2-1-2. Examen microscopique des fèces :.....                              | 28        |
| 2-1-2-1 Méthodes de concentration d'oocystes.....                         | 28        |
| 2-1-2-1-1 Méthodes physique .....   | 28        |
| 2-1-2-1-1 -1 Des méthodes de flottation .....                             | 28        |
| 2-1-2-1-1 -1 -1 Méthode d'Anderson .....                                  | 28        |
| 2-1-2-1-1 -2 Des techniques de sédimentation.....                         | 29        |
| 2-1-2-1-1 -2-1 Les techniques diphasiques.....                            | 29        |
| 2-1-2-1-1-2-1 Technique de Ritchie modifiée par Allen et Ridley (1970)... | 29        |
| 2-1-2-1- 2 La séparation immunomagnétique (IMS).....                      | 29        |

|                 |  |    |
|-----------------|--|----|
| 2-1-2-2         | Techniques de coloration des cryptosporidium dans les selles.....  | 30 |
| 2-1-2-2-1       | Les techniques de coloration temporaires.....  | 30 |
| 2-1-2-2-1 -1    | La coloration de Heine (Heine, 1982).....  | 30 |
| 2-1-2-2-1 -1 -1 | Technique de laboratoire.....  | 31 |
| 2-1-2-2-1-2     | Coloration Auramine-fuchsine carbolique.....   | 31 |
| 2-1-2-2-1-3     | Coloration au lugol .....  | 32 |
| 2-1-2-2-2       | Les techniques de coloration permanentes.....  | 33 |
| 2-1-2-2-2 -1    | La coloration de Giemsa .....  | 33 |
| 2-1-2-2-2 -1 -1 | Technique de laboratoire : voire Annexe 5.....   | 33 |
| 2-1-2-2-2 -2    | Coloration de Ziehl Neelsen modifiée Henriksen et Pohlenz ( 1981).....   | 33 |
| 2-1-2-2-2 -2-1  | Technique de laboratoire : Le protocole donné par Henriksen et<br>Pohlenz (Voir en Annexe 5).....                  | 34 |
| 2-1-2-2-2 -3    | Coloration de Ziehl Neelsen modifiée Angus.....  | 34 |
| 2-1-2-2-2 -3-1  | Technique de laboratoire (Voir en Annexe 6).....   | 34 |
| 2-2             | Les techniques immunologiques et moléculaires .....  | 34 |
| 2-2-1           | Techniques immunologiques directes.....  | 34 |
| 2-2- 2          | Immunofluorescence directe.....  | 34 |
| 2-2- 3          | Des techniques immunoenzymatiques.....   | 35 |
| 2-2- 3 -1       | Détection des antigènes de cryptosporidies par ELISA.....  | 35 |
| 2-2- 3-2        | Tests immunochromatographique.....   | 36 |
| 2-2-2           | Techniques immunologiques indirectes.....  | 36 |
| 2-2-2 -1        | Les techniques de détection des anticorps sériques (ELISA,<br>immunofluorescence indirect, Western-blot, etc)..... | 36 |
| 2-3             | Test de biologie moléculaire.....  | 36 |
| 2-3-1           | Les réactions d'amplification en chaine par polymérase (PCR).....  | 37 |

# Partie Expérimentale

|  |        |
|--|--------|
| <b>I – OBJECTIFS</b> .....   | 38     |
| <b>II- Matériels et méthodes</b> .....   | 39     |
| 1- Zones d'étude.....  | 39     |
| 2- Population d'étude : .....  | 39     |
| 3-Conception de l'étude et stratégie d'échantillonnage .....   | 39     |
| 4-Prélèvement d'échantillons fécaux : .....  | 41     |
| 4-1 Matériel utilisé pour les prélèvements :.....  | 41     |
| 5- Matériel de laboratoire utilisé pour l'examen parasitologique .....   | 42     |
| 5-1 - Matériel utilisé pour la technique d'enrichissement (technique de Ritchie simplifiée par Allen et Ridley 1981) ..... | 42     |
| 5-2 Matériel utilisé pour la coloration Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Phlenz 1980.....                           | 43     |
| 6- Mise en évidence des oocystes des <i>Cryptosporidium</i> spp. ....  | 44     |
| 6-1- Technique de Ritchie simplifiée par Allen et Ridley (1970).....   | 44     |
| 6-1-1 : Mode opératoire .....  | 45     |
| 6-2 Technique de Ziehl-neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz(1981) .....   | 46     |
| 6-2-1 Mode opératoire.....   | 46     |
| 6-2-1-1 Confection d'un frottis fécal .....  | 46     |
| 6-2-1-2 Fixation et coloration du frottis .....  | 47     |
| 7- Analyse statistique des données :.....  | 48     |
| 7-1- Analyse statistique du degré d'infestation et d'excrétion des oocystes de <i>Cryptosporidium</i> spp .....            | 49     |
| 7-2- Etude descriptive.....  | 49     |
| 7-3- Etude analytique.....   | 49     |
| <b>III RESULTATS</b> .....   | 50-76  |
| <b>IX DISCUSSION</b> .....   | 77-83  |
| <b>CONCLUSION</b> .....  | 84     |
| <b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....   | 85-101 |

# LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES

## Partie Bibliographique

**Tableau 1 :** Classification taxonomique de *Cryptosporidium* spp. (D'après Current et Garcia, 1991 a ; Fayer dans Fayer et Xiao, 2007)

**Tableau 2 :** Espèces de cryptosporidies recensées chez les Mammifères (Adapté de XIAO et al., 2004 ; XIAO et FAYER, 2008 et LCONTE, 2013).

**Figure 1 :** Cycle de développement de *Cryptosporidium* spp. (D'après Fayer dans Fayer et Xiao, 2007)

**Figure 2 :** Images d'oocystes matures de *Cryptosporidium* spp en microscopie électronique en transmission (D'après Valigurova et al., 2008).

**Figure 3 :** Images de sporozoïtes de *Cryptosporidium* spp en microscopie électronique à transmission (D'après Valigurova et al., 2008).

**Figure 4 :** Images de trophozoïte de *Cryptosporidium* spp en microscopie électronique en transmission (D'après Valigurova et al., 2008).

**Figure 5 :** Image d'un méronte de *Cryptosporidium* spp en microscopie électronique en transmission (D'après Valigurova et al., 2008).

**Figure 6 :** Image d'un macrogamonte de *Cryptosporidium* spp en microscopie électronique à transmission (D'après Valigurova et al., 2008).

**Figure 7 :** Image d'un microgamonte de *Cryptosporidium* spp en microscopie électronique à transmission (D'après Valigurova et al., 2008).

**Figure 8 :** Les phases endogènes de *Cryptosporidium* à la surface de l'intestin grêle. Microscopie électronique à balayage (Vitovec et Koudela, 1988).

**Figure n° 9:** Les phases endogènes de *Cryptosporidium* à la surface de l'intestin grêle. Microscope optique (Casemore, 1991).

**Figure n° 10.** La tache négative de Heine. Les oocystes, réfringents, restent non colorés.

**Figure n° 11 :** Oocystes de *C. parvum* sur une lame colorée par du lugol (objectif x40)

**Figure n°12.** Technique modifiée de Ziehl-Neelsen. Les oocystes sont vus en rouge sur le fond vert-bleu.

# LISTE DES TABLEAUX

## Partie expérimentale

**Tableau 1 :** Importantes caractéristiques de gestion observées au niveau des élevages.

**Tableau 2 :** Distribution de nombres des veaux examinés et des veaux positifs à *Cryptosporidies* dans les différents élevages.

**Tableau 3 :** Effectifs de veaux diarrhéiques et non diarrhéiques en fonction de leur âge.

**Tableau 4 :** Nombre négatifs et positifs de veaux diarrhéiques et non diarrhéiques.

**Tableau 5 :** Degré d'infestation des matières fécales *par Cryptosporidium spp* en fonction de l'âge des veaux.

**Tableau 6 :** Fréquence d'apparition et degré d'infestation des cryptosporidies selon le type des fèces par rapport à l'âge des veaux.

**Tableau 7 :** Evolution mensuelle de l'incidence des cryptosporidies chez les veaux.

**Tableau 8 :** Variation de la prévalence de la cryptosporidiose en fonction de la race des veaux.

**Tableau 9 :** Distribution des cas de la cryptosporidiose en fonction du sexe des veaux.

**Tableau 10 :** Variation de la prévalence à *Cryptosporidium spp* . en fonction de la tranche d'âge

**Tableau 11 :** Prévalence de la cryptosporidiose chez les veaux selon leur condition physique

**Tableau 12 :** Prévalence de *Cryptosporidium spp* avec le groupe d'âge et le statut diarrhéique des veaux.

**Tableau 13 :** Analyse univariée et relation entre les facteurs de risque potentiels et la prévalence de l'infection à *Cryptosporidium spp* avec des intervalles de confiance à 95% en termes de variables liées au veau en utilisant le test  $X^2$ .

**Tableau 14 :** Variation de la prévalence de la cryptosporidiose des veaux et le type d'élevage.

**Tableau 15 :** Le taux de prévalence de l'infection à *Cryptosporidium spp* chez les veaux selon le type de sole des élevages.

**Tableau 16 :** Résultats de l'analyse d'étude de la prévalence de la cryptosporidiose des veaux et le type de la salle d'élevage.

**Tableau 17 :** Résultats de l'analyse d'étude de la prévalence de la cryptosporidiose des veaux Selon les conditions hygiéniques des élevages.

**Tableau 18 :** Analyse univariée des facteurs de risque de l'infection à *Cryptosporidium spp* chez les veaux aux termes de variables hypothétiques liée aux élevages.

**Tableau19 :** L'analyse de la de régression logistique multivariable des différents facteurs de risques probables avec le calcul des OR et IC à 95%.

**Tableau 20 :** les OR et leurs IC des facteurs de risque liées à l'infection par *Cryptosporidium spp* . chez les veaux retenues dans le model finale.

# LISTE DES FIGURES

## Partie expérimentale

**Figure 1** : Démonstration géographique de la région d'étude (Les trois régions de l'extrême est de l'Algérie incriminées l'étude).

**Figure 2** : Prélèvement des matières fécales chez un veau (personnelle 2017).

**Figure 3** : **Séparation** des différentes phases après centrifugation (personnelle 2017).

**Figure 4** : Un élevage traditionnel des veaux (Personnelle 2017).

**Figure 5** : Oocystes de *Cryptosporidium* observés dans des frottis fécaux de veaux (X100) (Personnelle 2017).

**Figure 6** : Histogramme représentant les effectifs de veaux diarrhéiques et sains en fonction de leur âge.

**Figure 7** : Diagramme donnant la répartition des effectifs de veaux de l'étude en fonction de leur statut clinique et de leur parasitisme.

**Figure 8** : Représentation graphique de l'importance du degré d'infestation par *Cryptosporidium spp* en fonction de l'âge des veaux.

**Figure 9** : Représentation graphique de corrélation du degré d'infestation par *Cryptosporidium spp* et les matières fécales diarrhéiques en fonction de l'âge des veaux.

**Figure 10** : Représentation graphique du degré d'infestation par *Cryptosporidium spp* et les matières fécales non diarrhéiques en fonction de l'âge des veaux.

**Figure 11** : Diagramme représentant les variations mensuelles de la prévalence de la cryptosporidiose pendant la période de l'étude.

**Figure12** : Histogramme représentatifs de la variation de la prévalence de la cryptosporidiose en fonction de la race de veau.

**Figure13** : Histogramme représentatifs de la distribution des cas de la cryptosporidiose en fonction du sexe de veau.

**Figure14**: Histogramme représentatifs de la prévalence de l'infection à *Cryptosporidium spp*. en fonction de l'âge de veau.

**Figure 15** : Histogramme de variation de la prévalence de la cryptosporidiose en fonction du condition physique de veau.

**Figure 16** : Histogramme de variation de la prévalence de la cryptosporidiose en fonction de l'âge et le statut diarrhéique de veau.

**Figure 17** : Histogramme représentatifs de la distribution de la prévalence de l'infection à *Cryptosporidium spp* .chez le veau selon le type d'élevages.

**Figure 18** : Histogramme représentatifs de la distribution de la prévalence de l'infection à *Cryptosporidium spp* chez le veau selon le type de sole des élevages.

**Figure 19 :** Diagramme représentatifs de la prévalence de la cryptosporidiose chez le veau selon le type de salle des élevages.

**Figure 20 :** Diagramme représentatifs de la prévalence de cryptosporidiose chez le veau selon les conditions de l'hygiène des élevages.

## Liste des abréviations

Ag :antigène

J : jours

E. Coli : Eshrichia Coli

COWP-PCR : Cryptosporidium oocyst wall protein PCR

CpCDPK1 : Calcium-Dependent Protein Kinase-1 from Cryptosporidium parvum

CPCs : Concentrateurs Paraboliques Composés

EIA : Enzyme ImmunoAssay

ELISAs : Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assays

IF : Immunofluorescence

mg : Milligramme

MFD : Matières fécale diarrhéique

MFND : Matières fécale non diarrhéique

OPG : Oocystes Par Gramme de fèces

PCR : Polymerase Chain Reaction

SIDA : Syndrome de l'ImmunoDéficiency Acquisée SRAS : Syndrome Respiratoire Aigu Sévère

VIH : Virus de l'Immunodéficiency Humaine

C. parvum : *Cryptosporidium parvum*

Z-N Ziehl-Neelsen

# **Partie**

# **Bibliographique**

## INTRODUCTION

La diarrhée est un syndrome caractérisé par l'émission trop fréquente de fèces trop liquides. La diarrhée néonatale est encore à ce jour une maladie importante du veau nouveau-né (Ravary B , Sattler N ., 2006) elle est la principale cause de maladie chez les veaux. Elle peut toucher de 10% à 80% des veaux suivant les élevages.

La cryptosporidiose est une maladie parasitaire à protozoaires définie comme une zoonose parasitaire causée par des parasites appartenant au genre *Cryptosporidium* qui infectent les épithélium gastro-intestinal d'un large éventail de vertébrés (Rodrigues et al., 2016).

*Cryptosporidium* est à l'origine d'un syndrome gastro-entérique et des diarrhées néonatales ; son importance est primordiale chez les nouveau-nés bien que toutes les classes d'âge puissent être infectées par le parasite provoquant des pertes économiques importantes en raison de la morbidité et de la mortalité occasionnées.

Parmi les animaux domestiques, les bovins sont les plus étudiés et, l'importance de *Cryptosporidium* est primordiale chez les nouveau-nés, les animaux âgés de 7 à 21 jours sont particulièrement sensibles à cette infection intestinale, bien que toutes les classes d'âge puissent être infectées par le parasite. (Aquino et al., 2015) . *Cryptosporidium parvum*, infectant l'homme et la plupart des espèces animales, est considéré comme le principal contributeur de transmission zoonotique de la cryptosporidiose (Robertson et al., 2014) avec un taux de morbidité variant de 5 à 11%. C'est une valeur considérablement élevée lorsqu'il est associé à d'autres agents infectieux, une faiblesse due à la nutrition et le statut immunosuppression des veaux (Couto et Bomfim, 2012).

Plusieurs espèces de *Cryptosporidium* sont responsables de syndrome de diarrhée aqueuse ainsi que le syndrome de douleur abdominal, déshydratation, perte de poids, retard de croissance et, dans de nombreux cas, décès d'animaux (Galvao et al., 2012). La cryptosporidiose est considéré comme une infection à haut risque pour le nouveau-né et les personnes immunodéprimées, causant ainsi une perte pertes économiques significative, soit directement en raison d'un retard de croissance, soit en raison de la mortalité chez les nouveau-nés et de la diminution de la production laitière chez les adultes (Torsein et al., 2011). *Cryptosporidium* est aussi reconnue comme la principale cause de diarrhée humide des

ruminants sevrés précocement, entraînant une morbidité et une mortalité élevée (Cho et al., 2013).

La forte prévalence et l'excrétion d'oocystes parmi les veaux jouent un rôle important en tant que source directe d'infection, les oocystes persistant pendant de longues périodes dans un environnement approprié (Castro-Hermida et al., 2002). La voie oro-fécale reste la principale voie de transmission liée à la consommation d'eau et de nourriture ainsi qu'au contact avec des animaux et / ou des humains infectés (Smith et al., 2015). Danisova et al. (2017) à démontré que les rongeurs pouvaient jouer un rôle important transmission d'infections dues à des espèces zoonotiques (*C. parvum*, *C. hominis*, *C. suis* et *C. scrofarum*). Récemment, la cryptosporidiose a également été reconnue comme la deuxième cause de divers types de diarrhée chez les enfants des pays en développement (Platts-Mills et al., 2015).

En Algérie, Actuellement, la prévalence de *Cryptosporidium spp* et ses espèces chez les veaux de moins de quatre mois non sevrés diarrhéiques ou sains dans l'est de l'Algerie, a fait l'objet de peu d'études scientifiques pour évaluer l'importance de cette parasitose dans l'étiologie des diarrhées néonatales des veaux. En outre, les informations disponibles concernant cette maladie, y compris la prévalence, les points faible des élevages étudiées et la connaissance et distribution des facteurs de risque potentiels sont inconnues ou inadéquats. Cette étude à été réalisée dans le but d'apportées des données sur la prévalence de l'infection à *Cryptosporidium spp.* chez les veaux de moins de quatre mois non sevrés dans deux différents systèmes d'élevage d'une part et d'étudier et identifier les facteurs de risque potentiels de cette infection dans l'est Algérien d'autre part.

## **I - DEFINITION**

La cryptosporidiose est une affection zoonotique cosmopolite dont l'agent étiologique est un protozoaire du genre *Cryptosporidium* et dont le développement se déroule, comme nous venons de le voir, dans les cellules épithéliales des vertébrés (Chartier, 2001 a et b ; Ripert et Guyot 2003 ; Appelbee et al., 2005 ). Le principal symptôme observé est la diarrhée qui est particulièrement sévère chez les nouveaux nés (animaux ou humains) et les individus immunodéprimés.

Il existe des animaux ou humains (non immunodéprimés) qui ne déclenchent aucune maladie bien qu'infectés ; on parle de porteurs asymptomatiques ou porteurs sains. Ceux-ci constituent des réservoirs de la maladie car ils excrètent des oocystes de *Cryptosporidium* spp sans présenter de signes cliniques.

Cette parasitose est responsable d'importantes pertes économiques en élevage de ruminants. Les animaux âgés de 7 à 21 jours sont particulièrement sensibles à cette maladie diarrhéique, caractérisée par une morbidité et une mortalité élevées (Trotz-Williams et al., 2007; Santín et al., 2008).

## II- Historique et progression des idées

Cryptosporidium est un parasite connu des vétérinaires depuis plusieurs années. La première observation de la maladie a été faite par Tyzzer en 1907 sur des souris de laboratoire. Il a décelé le parasite au niveau de la muqueuse gastrique de la souris. (Cryptosporidium muris)

Tyzzer en 1910 décrivit aussi des stades sexués et asexués chez le parasite, ainsi qu'un attachement aux cellules épithéliales gastriques de l'hôte par le biais d'un organelle spécialisé. Il détailla alors les caractéristiques permettant d'établir un nouveau genre de sporozoaires apparenté aux Coccidies : Cryptosporidium

En 1912, Tyzzer a considéré que chez la souris le parasite retrouvé dans les biopsies intestinales était *Cryptosporidium parvum*.

En 1920 il a retrouvé *Cryptosporidium sp.* chez le lapin. (Cenac, 1984) et Dans l'année 1925, Triffitt a retrouvé *Cryptosporidium sp.* chez le serpent *Crotalus confluence*. (Levine 1984, Fayer et Ungar, 1986). Quatre années plus tard il a identifié *Cryptosporidium* dans le coecum du poulet et en 1961 Levin l'a nommé *Cryptosporidium tyzzeri*. (Levine 1984, Fayer et Ungar, 1986)

En 1955, Slavin a isolé une autre espèce de *Cryptosporidium* chez la dinde (*Meleagris gallopavo*) : *Cryptosporidium meleagridis* accompagner d'une diarrhée aiguë, ce qui fait croire du rôle important des Cryptosporidies comme cause de la diarrhée. (Alain 2003a, Chartier 2003, Fayer 2004)

Barupt, en 1964 (Morin 2002), a décrit *Cryptosporidium sp.* chez le dingo où les oocystes sont détectés dans les selles. En 1966, Jervis et al., ont décrit chez le cobaye (*Cavia porcellus*) *Cryptosporidium wrairi* (Euzeby 2002). Après deux années et en 1968 Anderson et al., découvrent chez le lézard *Cryptosporidium lompropeltis* (Fayer et Ungar 1986).

Le parasite est cependant resté ignoré ou considéré comme un organisme commensal jusqu'à sa reconnaissance, par les vétérinaires dans les années 70 comme responsable d'épidémies de diarrhées parfois mortelles dans les élevages de jeunes veaux.

En 1971, Panciera et al. ont observé *Cryptosporidium* avec une diarrhée chez une génisse de 8 mois (Uga et al 2002, Fayer 2004) tandis que Barker et Carbonella en 1972 l'ont observé chez le chevreau et l'agneau (Morin 2002). Au cours de la même année 1972, Kovatsh et White ont isolé *Cryptosporidium sp.* chez le singe rhésus. (Euzeby 2002).

Levine, en 1973, a tenté de classer les cryptosporidies. Proctor et Kem ont retrouvé *Cryptosporidium anserinum* Chez l'oie en 1974 avec l'apparition de deux cas de cryptosporidiose bovine avec de la diarrhée chez un veau. (Fayer et Ungar, 1986)

En 1978 : Grâce à l'utilisation de la microscopie électronique l'existence des oocystes à été confirmée (Pohlenz et al., 1978). La détection d'oocystes dans les selles est alors devenue la méthode principale de diagnostic de la cryptosporidiose.

Iskie en 1979, à décrit *Cryptosporidium Felis* chez le chat *Félis Catus*. (O'Donoghe 1995, Fayer et Ungar, 1986)

C'est en 1980 que *Cryptosporidium parvum* a été détecté par Tzipori et al. seul sans d'autres agents entéropathogènes responsable des diarrhées néonatales, comme agent responsable d'une enzootie de diarrhées des veaux. (Chartier, 2003). Durant la même année *Cryptosporidium serpentis* à été détectés par Levine chez plusieurs espèces de serpent. (Euzeby, 2002). De même le premier cas de Cryptosporidiose canine à été décrite par Tzipori et Campbell. (Morgan et al., 2000)

En 1984 Levine rassembla 19 espèces dans le genre *Cryptosporidium*. (Rebbatichi 1999).

- Au l'USA 1985 l'espèce de *Cryptosporidium andersonie* identique à *C. muris* à été signalé au niveau de l'abomasum des bovins.

-En 1986, découverte par Current et al., de l'espèce *Cryptosporidium Bailye* chez le poulet. (Fayer et Ungar 1986, Euzeby, 2002)

-En 1998 : (Koudela et Mordy, 1998), cité par (Euzeby, 2002). Décritent *C. saurophilium* chez les poissons.

Chez l'homme, les premiers cas ont été diagnostiqués en 1976 : le premier cas chez un enfant de trois ans présentant une gastroentérite (Nime et al., 1976) et le second cas chez un patient immunodéprimé (Meisel et al., 1976) au USA. (Watt, 1986; Bourée, 1989; Euzeby, 2003) Ce n'est qu'au début des années 80 que la cryptosporidiose humaine a fait une bruyante émergence avec la forte apparition du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA)

En effet, depuis 1981, des parasitoses intestinales déjà connues en médecine vétérinaire ont émergé en pathologie humaine donc une zoonose ou les ruminants constituer le réservoir principale (Naciri, et al., 2000); telles que la cryptosporidiose ou la microsporidiose et qui

sont responsables des diarrhées très sévères ou aigues atypiques. Au cours de la même année Bird et Smith ont étudié sept cas de cryptosporidiose chez l'homme à *Cryptosporidium garnhami* (Fayer et Ungar , 1986) ; dont six concernaient des patients immunodéprimés.

En 1984, *Cryptosporidium spp* est également impliqué dans de nombreuses épidémies notamment au USA et Royaume Uni, pour la plupart ayant une origine hydrique.

En 1985, Upton, déclare l'existence de deux formes de *Cryptosporidium* chez l'homme selon les critères morphologiques, l'une petite considérée comme *C.parvum* très fréquente. L'autre, plus grande et souvent ovalaire c'est *C .muris* . (Forget et al 1990)

En 1993 , l'épidémie de Milwaukee (Wisconsin, Etats-Unis) qui a touchée plus de 400 0000 personnes à la suite d'une contamination du réseau de distribution d'eau. Elle a donné une réelle importance à ce parasite.

Smith et al. 2007 ; Robertson et Huang, 2012 ont également signalées des épidémies, dues à la consommation des aliments (lait, salade de poulet, viande...).

En Algérie, les premiers cas ont été mis en évidence 1992 par (Azzam - Bouчек , 1992).

En 1996, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a classé ce parasite comme pathogène ayant une importance en santé publique du fait qu'il soit capable d'infecter à de très faibles doses et de sa grande résistance aux traitements conventionnels de l'eau. L'émergence de ce parasite liée à la pandémie du SIDA et à des épidémies d'origine hydrique, a favorisé les recherches sur *Cryptosporidium spp*.

### III ETUDE DU PARASITE

#### 1- Taxonomie et caractéristiques biologiques

Les parasites du genre *Cryptosporidium* sont des protozoaires qui appartiennent au phylum des Apicomplexa et à la classe des coccidies. Le phylum des Apicomplexa représente un groupe d'agents pathogènes de grande importance économique, vétérinaire et médicale. Les membres de ce phylum partagent des caractéristiques communes. En effet, ils sont polarisés et possèdent un complexe d'organelles en position apicale contenant des protéines essentielles aux différentes étapes d'invasion et de développement au sein de la cellule hôte.

La position systématique de *Cryptosporidium spp* au sein des protozoaires est décrite ci-dessous.

**Tableau 1 :** Classification taxonomique de *Cryptosporidium spp*. (D'après Current et Garcia, 1991 a ; Fayer et Xiao, 2007)

| <b>Classification</b>                           | <b>Caractéristiques biologique</b>  |
|---|---|
| <b>Empire :</b><br><b>Eukaryota</b>             | - Cellules possédant un noyau avec une enveloppe nucléaire  |
| <b>Règne :</b> Protozoa                         | - Eucaryote unicellulaire   |
| <b>Phylum :</b><br><b>Apicomplexa</b>           | - Présence d'un complexe apical (rôle dans la pénétration du parasite au sein de la cellule hôte) chez les formes invasives   |
| <b>Classe :</b> Coccidea                        | - Oocystes contenant des sporozoïtes infectieux résultant de la sporogonie  |
| <b>Sous-Classe :</b><br><b>Coccidiasina</b>     | Cycle biologique comprenant des stades de schizogonie, gamétogonie et sporogonie.   |
| <b>Ordre :</b><br><b>Eucoccidiorida</b>         | - Etape de schizogonie, aussi appelée mérogonie, toujours présente,   |
| <b>Sous-Ordre :</b><br><b>Eimeriorina</b>       | - Développement indépendant des micros et macrogamètes  |
| <b>Famille :</b><br><b>Cryptosporidiidae</b>    | - Oocystes contenant 4 sporozoïtes nus (pas de sporocystes contrairement aux Eimeriidae)<br>- Cycle biologique monoxène (un seul hôte)<br>- Développement intracellulaire extracytoplasmique<br>- Développement sous la bordure en brosse des cellules épithéliales colonisées. |
| <b>Genre :</b><br><b><i>Cryptosporidium</i></b> | Développement extracytoplasmique  |

Pour caractériser les espèces de *Cryptosporidium spp*, en plus des critères morphologiques et /ou de spécificités d'hôte, il est nécessaire de prendre en considération l'importance des différences au niveau du site d'infection préférentiel, les critères biochimiques, les critères

immunologiques et les critères génétiques (Xiao et al., 2004). A ce jour, plus d'une vingtaine d'espèces au sein du genre *Cryptosporidium spp* sont décrites mais la taxonomie des espèces de ce genre est en perpétuel changement et reste sujet à discussion pour de nombreux chercheurs (Fayer dans Fayer et Xiao, 2007 ; Slapeta, 2011 ; Chalmers et Katzer, 2013).

**2- Cycle évolutif du parasite :** D'après Fayer dans Fayer et Xiao, 2007 et Chalmers et Katzer, 2013

Les connaissances sur la morphologie des oocystes (taille, forme) ainsi que celles sur le cycle de développement du parasite sont relativement bien établies malgré l'absence de modèles en culture cellulaire. L'ensemble des espèces du genre *Cryptosporidium* sont des parasites intracellulaires obligatoires (Fayer dans Fayer et Xiao, 2007). Ce sont des parasites monoxènes : un seul hôte est nécessaire pour effectuer leur cycle de développement qui se déroule dans les cellules épithéliales de l'intestin (pour la plupart des espèces).

*Cryptosporidium* a un cycle de développement complexe qui débute par l'ingestion d'oocystes (formes de résistance et de dissémination) et se poursuit par des phases de multiplication asexuée et de reproduction sexuée du parasite (Figure 1). Le cycle se déroule de la façon suivante :

un hôte va ingérer des oocystes dans l'environnement (Figure 1). Une fois ingéré, cet oocyste va excyter sous l'action de la trypsine et des sels biliaires et ainsi libérer son contenu soit quatre sporozoïtes (éléments invasifs). Ces éléments invasifs sortent de l'oocyste en se déplaçant par glissement grâce à leur système microtubulaire pour arriver au niveau de la bordure en brosse des cellules épithéliales de l'intestin. Ils pénètrent alors dans les cellules épithéliales intestinales et s'entourent d'une vacuole parasitophore, vacuole ayant pour origine la membrane plasmique des cellules épithéliales, pour devenir des trophozoïtes. Cette vacuole, en plus d'être un lieu d'échange entre le parasite et la cellule parasitée, permet la protection du parasite en empêchant la fusion avec les lysosomes. Le parasite se développe en position intracellulaire mais extracytoplasmique.

**2-1 Etape de mérogonie ou schizogonie (Phase asexuée) :** le cycle de multiplication se poursuit par des phases de multiplication asexuée appelées mérogonie ou schizogonie. La forme trophozoïte du parasite évolue en une nouvelle forme : le méronte de type I, qui contient 8 cellules filles appelées mérozoïtes de type I ou de

première génération (formés par des divisions nucléaires successives). Ces mérozoïtes de type I, une fois libérés, ont deux devenir possibles :

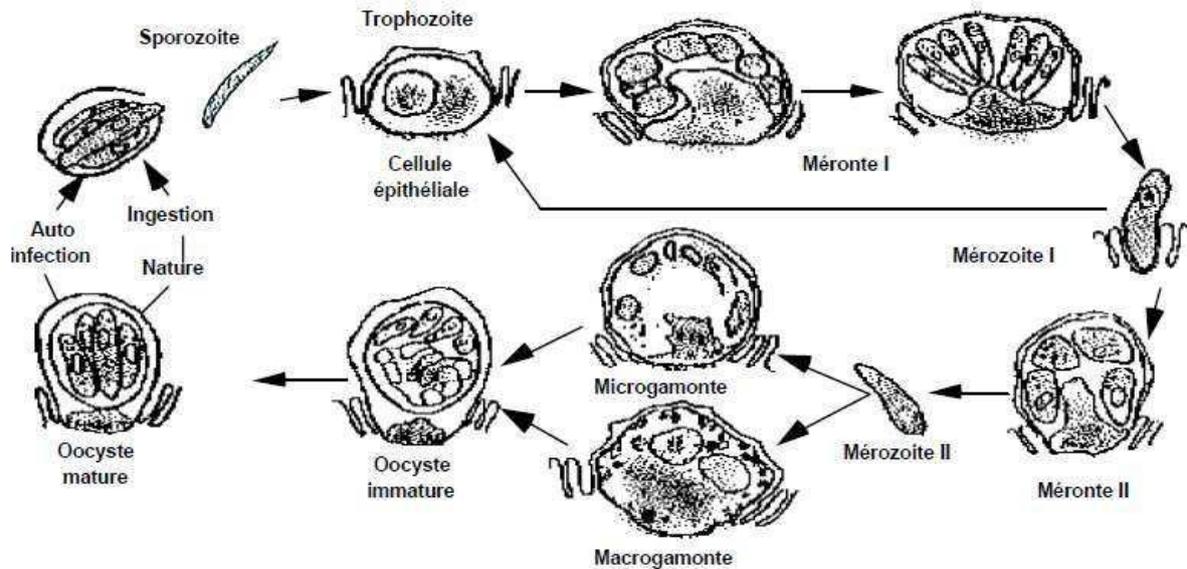
- soient ils participent à un phénomène de rétro-infection en reformant des mérozoïtes de type I (phénomène de reprotoinfection)
- soient ils vont lyser et envahir les cellules épithéliales voisines et former des mérozoïtes de type II (à l'origine de 4 mérozoïtes de type II ou de 2ème génération).

**2-2 Etape de gamétogonie (Phase sexuée) :**Après deux cycles de multiplication asexuée, les mérozoïtes de type II se différencient soit en microgamètes mâles (36 heures post-infection) ou macrogamètes femelles (48 heures post-infection). On parle alors de gamétogonie, qui correspond à la phase sexuée du cycle. Les microgamètes deviennent plurinucléés (chaque noyau est incorporé dans un microgamète non flagellé). Les macrogamètes, eux, demeurent uninucléés en devenant des macrogamètes. La fécondation des macrogamètes femelles par les microgamètes mâles aboutit à la formation de zygotes (oocyste immature 2 N chromosomes).

**2-3 Etape de sporogonie :** une fois le zygote formé, une enveloppe kystique résistante (ou paroi) va se former autour de lui. Celui-ci va ensuite subir la sporulation (à l'intérieur de l'hôte à la différence des coccidies) qui donne, par méiose, 4 sporozoïtes (N chromosomes). Ainsi se forme l'oocyste sporulé de *Cryptosporidium*. Ces oocystes matures sont émis directement sporulés dans la lumière intestinale et sont donc directement infectants pour un hôte sensible. Deux types d'oocystes sont formés :

- ceux à paroi épaisse (80%) qui constituent la forme de résistance et de transmission, éliminés dans les selles de l'hôte.
- ceux à paroi fine (20%) qui participent au phénomène d'auto-infection (excystation in situ) chez le même hôte.

Ces particularités (oocyste directement infectant, auto-infection par des oocystes à parois fines) ne sont pas partagées par les autres coccidies.



**Figure 1 :** Cycle de développement de *Cryptosporidium spp.* (D'après Fayer dans Fayer et Xiao, 2007)

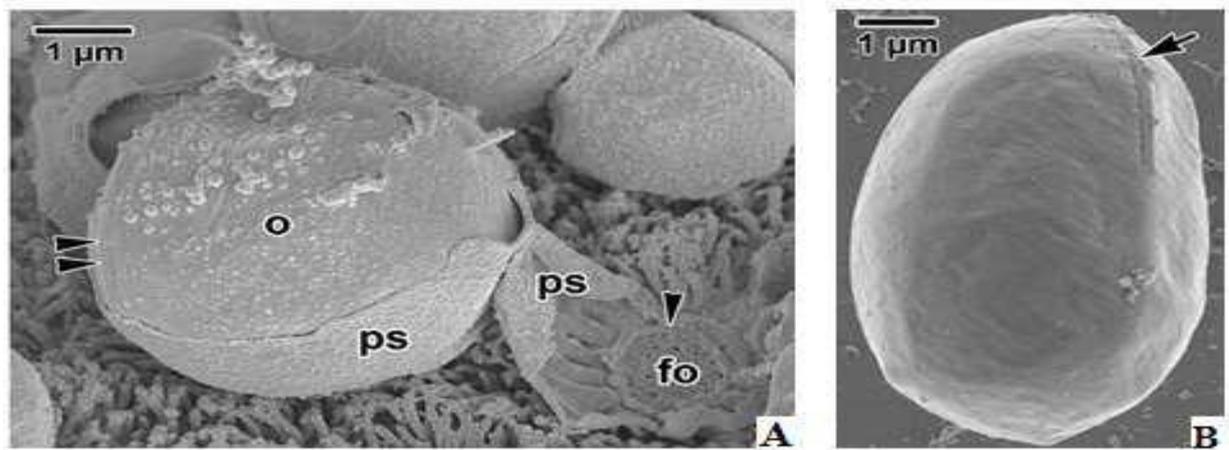
**3- Caractéristiques morphologiques des différents stades parasitaires :** Dans les années 1980, la microscopie électronique a fait son apparition et a permis la différenciation des différents stades parasitaires et de préciser les caractères morphologiques de *Cryptosporidium spp.*

### 3-1 Les oocystes

Parmi les coccidies, les oocystes de *Cryptosporidium spp* sont les plus petits, leur diamètre varie entre 4 et 8  $\mu\text{m}$  selon les espèces. Ils ont une forme sphérique à ovoïde et contiennent chacun quatre sporozoïtes, nus (sans sporocyste), libres agencés autour d'un corps résiduel granuleux très réfringent mesurant un micron de diamètre. Leur paroi est très résistante, elle leur permet une grande survie dans le milieu extérieur. Elle est composée de deux couches :

- La couche externe qui est composée d'une matrice polysaccharidique et la couche interne, qui est composée de glycoprotéines filamenteuses. La couche externe est immunogène et très résistante aux protéases .
- La couche interne de par sa composition confère une certaine élasticité à la paroi.

A l'un des pôles, une suture est visible sur la paroi, cette suture permet aux sporozoïtes de sortir de l'oocyste au moment de l'excystation (Fayer dans Fayer et Xiao, 2007).



**Figure 2 :** Images d'oocystes matures de *Cryptosporidium* spp en microscopie électronique en transmission (D'après Valigurova et al., 2008). A : Oocyste mature (o) partiellement enveloppé par une partie Ps : la vacuole parasitophore . Fo : organelle nourricier .

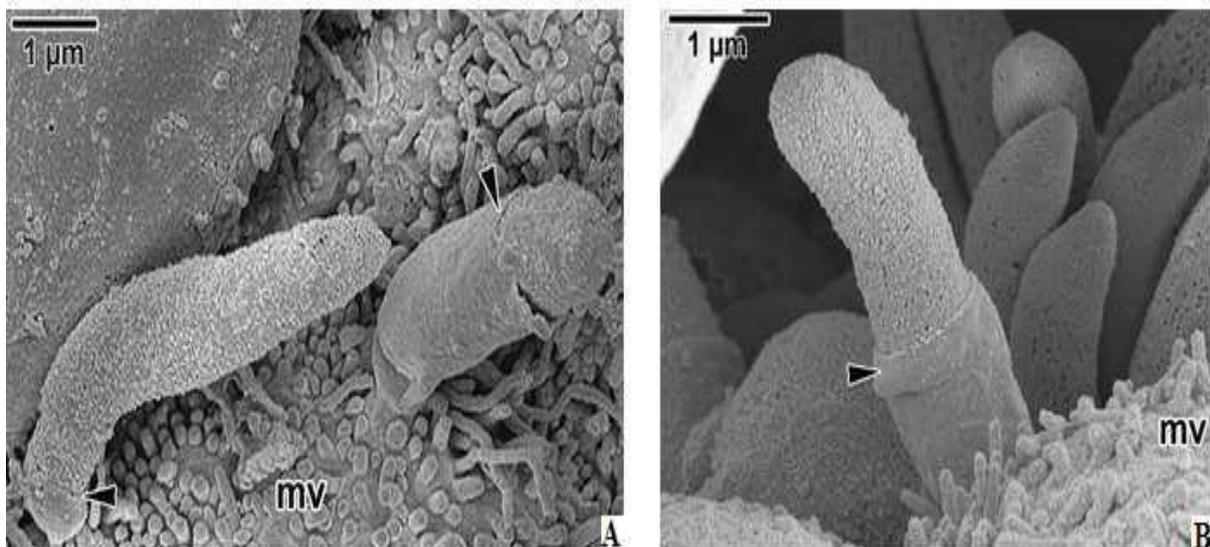
Les flèches à gauche indiquent la suture longitudinale. B : Oocyte mature récolté dans les fèces. La flèche présente la suture longitudinale

### 3-1-1 Résistance des oocystes

Les pourcentages élevés d'infections chez les ruminants domestiques sont dus, dans une large mesure, à trois caractéristiques de *Cryptosporidium* spp: sa faible dose infectante, la forte excrétion de formes de résistance dans les selles pouvant même dépasser 10 millions d'oocystes par gramme de fèces (Fayer et al., 1998; Nydam et al., 2001) et grande résistance au milieu. Les oocystes restent infectieux pendant 2 à 6 mois à 4 ° C, mais ne résiste que 30 minutes à 65 ° C ou 24 heures à -18 ° C, car il est très sensible à la séchage et congélation (Ortega-Mora et al., 1999). Ils sont également très résistants à désinfection chimique (Quílez et al., 2005); les oocystes ne sont pas affectés par la plupart des désinfectants utilisés en laboratoire ou à usage domestique et industriel, tels que l'hypochlorite de sodium à 6% ou l'éthanol à 70% (Weir et al., 2002). Réduire le pouvoir infectieux des oocystes de ce protozoaire, la plupart des désinfectants doit être utilisé pendant de longues périodes à une concentration très élevée, présentant des risques de toxicité et un coût élevé (Fayer et al., 1997; Fayer, 2008). De plus, la chloration de l'eau, aux doses habituelles, a peu d'effet car la plupart des oocystes résistent à l'ozone et à la chloration (Korich et al., 1990, Fayer, 1995). Pour lui Au contraire, il a été constaté que 10% de formol, ainsi que des composés à base de peroxydes ou l'ammonium éliminent ou réduisent de manière significative la capacité infectante des oocystes (Pavlassek, 1984 ; Quílez et al., 2005; Fayer, 2008).

### 3-2 Les sporozoïtes

Les sporozoïtes sont les formes parasitaires invasives, libres et mobiles. Ils ont une forme de croissant, avec une partie postérieure arrondie, et renferment un noyau proéminent. Ces éléments invasifs possèdent en position apicale un complexe d'organelles contenant des protéines essentielles aux différentes étapes d'invasion et de développement à l'intérieur de la cellule hôte. Parmi ces organelles on retrouve : des rhoptries, des micronèmes, des granules denses, un noyau, des ribosomes et des microtubules. Les protéines des micronèmes interviennent lors de l'attachement du parasite à la surface de la cellule hôte. Les protéines des rhoptries ont plutôt un rôle lors de l'étape d'invasion du parasite.



**Figure 3 :** Images de sporozoïtes de *Cryptosporidium* spp en microscopie électronique à transmission (D'après Valigurova et al., 2008).

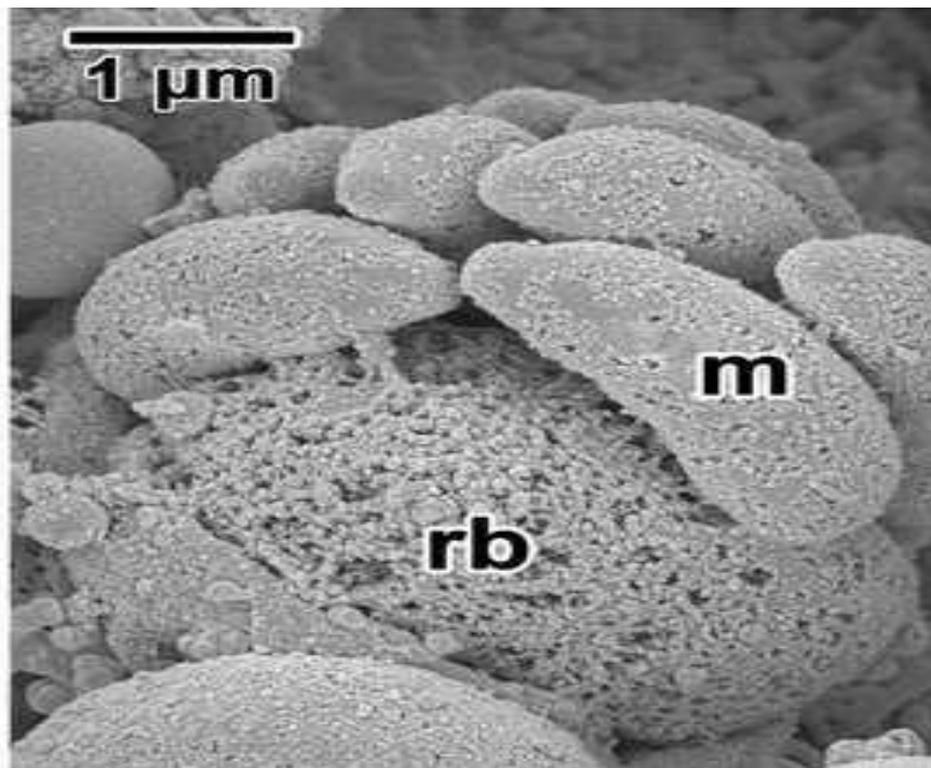
A et B : Sporozoïtes fixés à la cellule hôte, entourés de microvillosités (mv). Les flèches indiquent le recouvrement des parasites par la membrane de la cellule hôte aboutissant à la formation de la vacuole parasitophore.

### 3-3 Les mérontes et mérozoïtes de types I et II

Les deux types de mérontes mesurent entre 4 et 5 µ de diamètre. Les mérontes de type I, issus de la première multiplication asexuée contiennent 6 à 8 mérozoïtes alors que les

mérontes issus de la 2<sup>e</sup> multiplication ne contiennent que 4 mérozoïtes. Les mérozoïtes de type I sont attachés à un corps résiduel par leur extrémité postérieure. Une fois matures, ils se séparent de ce corps résiduel puis la membrane cellulaire de l'hôte qui entourait le méronte va se lyser permettant ainsi aux mérozoïtes extracellulaires d'aller infecter d'autres cellules hôtes pour reproduire des mérontes de type I ou alors évoluer en méronte de type II.

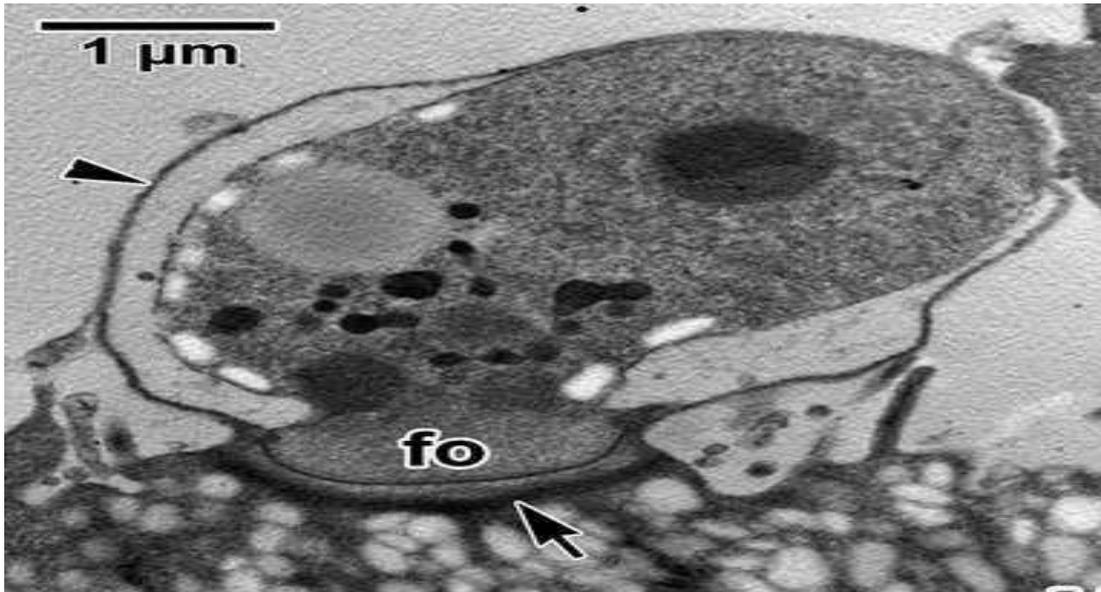
Les mérozoïtes ont la même morphologie que les sporozoïtes. Leurs extrémités antérieure et postérieure sont arrondies. Ils contiennent un noyau et de nombreux granules denses.



**Figure 5** : Image d'un méronte de *Cryptosporidium* spp en microscopie électronique en transmission (D'après Valigurova et al., 2008). Le méronte est mature, il contient des mérozoïtes (m) qui bourgeonnent à partir du corps résiduel (rb).

### 3-4 Les macrogamontes

Les macrogamontes sont caractérisés par la présence de granules d'amylopectine qui les différencient des trophozoïtes. Ils ont une forme sphérique à ovoïde et une taille comprise entre 4 et 6  $\mu\text{m}$ . Il présente une vacuole et un grand noyau en position central. Un macrogamonte donne naissance à un seul macrogamète.



**Figure 6** : Image d'un macrogamonte de *Cryptosporidium* spp en microscopie électronique à transmission (D'après Valigurova et al., 2008).

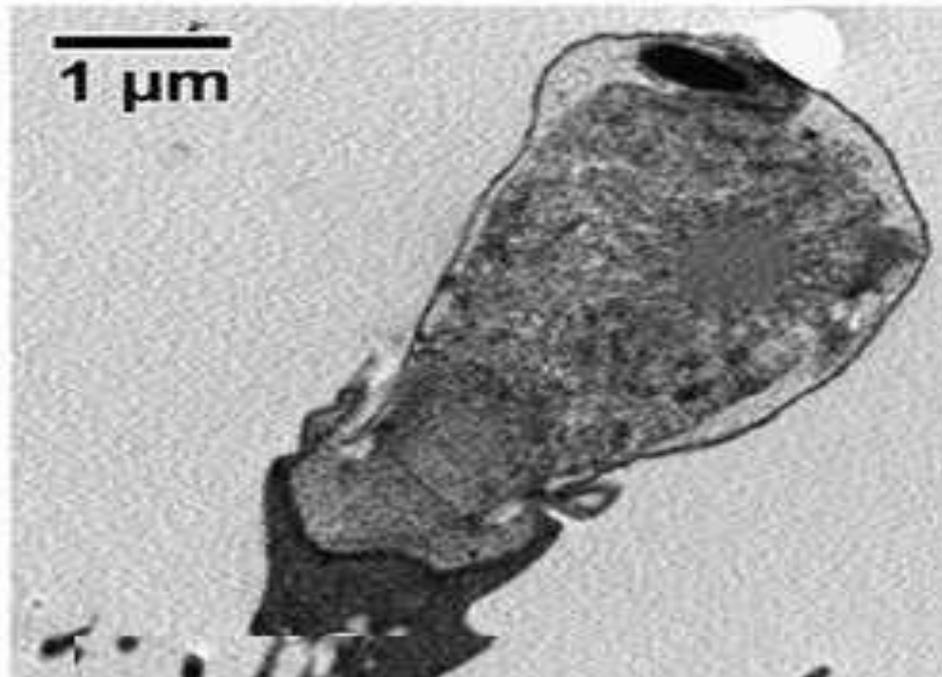
A ce stade l'organelle nourricier est toujours présent (fo).

### 3-6 Les microgamontes

Les microgamontes ressemblent aux mérontes mais contiennent de plus petits noyaux.

Ils sont rarement observés du fait de leur vie brève. Ce sont des divisions successives dans le microgamonte qui sont à l'origine des microgamètes. Ils renferment 14 à 16 microgamètes aflagellés, ces microgamètes ont une forme allongée avec une extrémité antérieure aplatie.

Chaque microgamète se forme par une protusion nucléaire à la surface du gamonte.



**Figure 7:** Image d'un microgamonte de *Cryptosporidium* spp en microscopie électronique à transmission (D'après Valigurova et al., 2008).

Les microgamètes s'attachent à la surface des cellules contenant les macrogamètes pour féconder les macrogamètes afin de produire des zygotes qui évolueront en oocystes.

#### 4- Espèces de cryptosporidies : Voir tableau 2

**Tableau 2 :** Espèces de cryptosporidies recensées chez les Mammifères (Adapté de XIAO et al., 2004 ; XIAO et FAYER, 2008 et LCONTE, 2013).

| Espèces                          | Hôtes majeurs               | Hôtes mineurs                              | Site de prédilection chez l'hôte |
|----------------------------------|-----------------------------|--|----------------------------------|
| <i>Cryptosporidium andersoni</i> | Bovin<br>Chameau domestique | Ovin                                       | Gastrique (abomasum)             |
| <i>Cryptosporidium baileyi</i>   | Poulet<br>Dinde             | Calopsitte<br>Caille<br>Autruche<br>Canard | Intestinal                       |
| <i>Cryptosporidium bovis</i>     | Bovin                       | -  | Non connu                        |
| <i>Cryptosporidium canis</i>     | Chien                       | Homme                                      | Intestinal                       |
| <i>Cryptosporidium cuniculus</i> | Lapin                       | Homme                                      | Intestinal                       |
| <i>Cryptosporidium fayeri</i>    | Kangourou                   | -  | Non connu                        |

|                                    |   |  |            |
|------------------------------------|---|--|------------|
| <i>Cryptosporidium felis</i>       | Chat  | Homme<br>Bovin                               | Intestinal |
| <i>Cryptosporidium galli</i>       | Poulet<br>Fringillidé<br>Gros-bec<br>Grand Tétrás | -  | Gastrique  |
| <i>Cryptosporidium hominis</i>     | Homme<br>Singe                                    | Ovin<br>Dugong                               | Intestinal |
| <i>Cryptosporidium macropodum</i>  | Kangourou   | -  | Non connu  |
| <i>Cryptosporidium meleagridis</i> | Dinde<br>Homme                                    | Perroquet                                    | Intestinal |
| <i>Cryptosporidium molnari</i>     | Daurade royale<br>Bar commun                      | -  | -          |
| <i>Cryptosporidium muris</i>       | Souris<br>Chameau<br>domestique                   | Homme<br>Daman du Cap<br>Chèvre<br>chamoisée | Gastrique  |

#### IV PATHOGENIE

La plupart des espèces du genre *Cryptosporidium* envahissent les cellules épithéliales du tube digestif, en particulier l'intestin grêle (Tzipori et al., 1983; Heine et al., 1984); la fin du jéjunum et l'iléon sont les endroits les plus communs (Heine et al., 1984). Le gros intestin, en revanche, n'est pas affecté par ce protozoaire (Tzipori et al. al., 1983). Cependant, d'autres espèces telles que *Cryptosporidium andersoni*, *Cryptosporidium muris* ou *Cryptosporidium serpentis* parasitent les cellules des glandes gastrique (Fayer, 2008).

Le développement des différentes phases du protozoaire dans la partie apicale des entérocytes provoque leur destruction, ce qui entraîne l' atrophie, la fusion et la diminution de la longueur des villosités intestinales, laissant la surface d'absorption très diminué (Howarth, 1981; Tzipori et al., 1983; Heine et al., 1984). En réponse à la perte de cellules épithéliales, une hyperplasie compensatoire des cellules de la les cryptes intestinales; cependant, ces nouvelles cellules sont relativement indifférenciées, avec une faible capacité enzymatique et une faible absorption (Tzipori, 1988). Ces facteurs provoquent une déficience dans le processus d'absorption intestinale (malabsorption), ce qui provoque la diarrhée.

En diminuant la capacité enzymatique de la muqueuse intestinale, la capacité de la de digestion est réduite (mauvaise digestion). L'activité de la  $\beta$ -galactoperoxydase ou de la lactase, présente dans les microvillosités des entérocytes matures diminuent ; de cette façon le lactose reste dans la lumière intestinale, entraînant des fermentations et des produits anormaux activement actifs, ils entraînent l'eau dans la lumière, aggravant la diarrhée et provoquant la déshydratation

Le processus inflammatoire qui cause le parasite dans l'intestin, se caractérise par une augmentation du nombre total de lymphocytes intraépithéliaux et du pourcentage de lymphocytes T CD4 + et CD8 +, provoque une altération de la perméabilité cellulaire, ce qui a également des répercussions sur les fonctions d'absorption et de digestion. Dans les mécanismes pathogènes de protozoaire il faut également discuté de la libération par *Cryptosporidium* d'une toxine d'action similaire à la toxine cholérique, avec la possibilité d'un effet sécrétoire (Guarino et al., 1994; Tzipori et Ward, 2002).

## V SIGNES CLINIQUES

Les signes cliniques dépendent principalement de l'âge de l'hôte et de son statut immunitaire, ainsi que l'espèce / le génotype du parasite et sa virulence, déterminés génétiquement *Cryptosporidium parvum* est l'espèce la plus pathogène et la plus fréquente chez veaux, bien que la plupart des infections se produisent chez les animaux de moins de 8 semaines de vie (Santín et al., 2004; Fayer et al., 2006, 2007; Langkjær et al., 2007).

*C. bovis* et *C. ryanae* sont au contraire des espèces mieux adaptées au bétail, ne provoquent pas de symptômes cliniques, étant plus fréquent chez les jeunes animaux sevrés (Santín et al., 2008). Bien que d'autres espèces intestinales, telles que *C. ubiquitum* ou *C. xiaoi* pourraient également jouer un rôle important dans l'apparition de foyers diarrhée néonatale (Wang et al., 2011; Sweeny et al., 2011). Dans tous les cas il a été noté qu'une infection concomitante par d'autres entéropathogènes semble aggraver le tableau clinique (Santín, 2013), bien que sa démonstration expérimentale soit nécessaire (Chalmers et Katzer, 2013).

Les infections cryptosporidiales intestinales affectant les ruminants domestiques ; sont plus fréquentes chez les jeunes animaux, en particulier entre 1 et 3 semaines de vie (Huetink et al., 2001; Nydam et al., 2001; Causapé et al., 2002; Castro-Hermida et al., 2002b; Santín et al., 2004; Misic et al., 2006) . Elles se caractérisent par l'apparition de diarrhée couleur jaunâtre abondante et une consistance aqueuse qui apparaît intensément, associée à une forte excrétion d'oocystes pouvant dépasser 10<sup>7</sup> oocystes par gramme de selles (Snodgrass et al., 1984; Ortega-Mora et al., 1993; Tzipori et al., 1982; Anderson, 1982; Angus et al., 1982; Fayer et al., 1998).

Il a été démontré qu'un seul veau peut éliminer jusqu'à 10<sup>10</sup> oocystes au cours d'une infection (Nydam et al., 2001; Fayer, 2004). Chez les veaux, il a été prouvé que la diarrhée peut apparaître très tôt, 3 jours après l'infection, avec une moyenne de environ 8 jours (3-14 jours), avec une paternité de 12 jours (Castro- Hermida et al., 2002b).

Les autres signes cliniques pouvant être associés à la cryptosporidiose chez les ruminants sont: dépression, faiblesse, prostration, anorexie, douleurs abdominales, perte de poids et fièvre (Howerth, 1981; Tzipori et al., 1983). Si les conditions environnementales sont défavorables et la gestion de l'exploitation n'est pas bonne, les pousses peuvent être produites avec une grande mortalité, principalement associée à la déshydratation.

En résumé les principaux signes cliniques sont :

### **1. Diarrhée et douleur abdominale :**

La diarrhée persiste 5 à 12 jours, avec une moyenne de 7 jours (Villeneuve 2003 ; Sanford SE 1982) . Un dos arrondi en raison de la douleur abdominale fait souvent partie des signes cliniques . La sévérité et la durée varient considérablement d'un individu à l'autre (Fayer R, 1998 b) . Chez les jeunes ruminants, *C. parvum* est responsable de diarrhée aigüe aqueuse, blanche à jaunâtre. Celle-ci peut être plus ou moins mucoïde mais est rarement sanglante, elles'accompagne généralement d'anorexie, fièvre.

### **2. Déshydratation et perte d'électrolytes :**

La déshydratation et la perte d'électrolytes sont les conséquences directes de la perte importante d'eau par malabsorption intestinale lors de diarrhée. Naciri et ses collaborateurs rapportent 11,8% (n=153) de veaux de boucherie déshydratés de façon importante lors de cryptosporidiose (pli de peau persistant au-delà de 30 secondes, yeux enfoncés dans les orbites et muqueuses sèches) (Villeneuve 2003). Cette étude, qui a eu lieu en 1999, montre également l'existence d'un décalage entre le moment de la diarrhée, qui se produit autour du troisième jour d'observation, et celui de la déshydratation qui survient plutôt vers le quatorzième jour. (Villeneuve 2003) .Des déséquilibres électrolytiques (Na, Cl, K, Ca et P) ainsi que des variations du pH sanguin ont à prévoir lors de diarrhées importantes s'étalant sur plusieurs jours (Sanford SE 1982).

### **3. Amaigrissement :**

Les maladies entériques causant de l'amaigrissement sont habituellement celles qui causent une diarrhée modérée sur une longue période (chronique) plutôt qu'une diarrhée aigüe pendant une courte période de temps comme c'est le cas en général lors de cryptosporidiose simple (Villeneuve 2003 ; Sanford SE 1982) . . Cependant, la maladie ouvre la porte à d'autres agents pathogènes opportunistes permettant de prolonger et d'augmenter la sévérité de la diarrhée en plus d'occasionner un amaigrissement important (Villeneuve 2003 ; Sanford SE 1982).

## **V I Etude anatomopathologique**

À l'autopsie, on peut observer une atrophie de la graisse mésentérique et infarctus des nœuds régionaux abdominaux (Tzipori et al., 1983). L'intestin grêle présente une image d'entérite congestive, avec le mucus hyperémique mais non hémorragique. Le contenu intestinal est souvent lait jaunâtre, liquide et avec des restes de lait non digérés ; Vous pouvez aussi voir les accumulations de gaz dans le caecum et le côlon (Sanford et Josephson, 1982 ; Heine et al. 1984).

## VII EPIDEMIOLOGIE

Actuellement, *Cryptosporidium* spp. est reconnu dans le monde entier comme l'un des entéropathogènes fréquemment impliqués dans l'apparition de processus diarrhéiques chez ruminants avec d'autres agents bactériens, viraux et parasitaires. Il a été démontré que *Escherichia coli* entérotoxigène, *Salmonella* spp, *Campylobacter* spp, *Clostridium* spp, Rotavirus, Coronavirus, *Cryptosporidium* spp, *Eimeria* spp et *Giardia* spp peuvent être associées à des épidémies d'infections chez les ruminants, isolément ou combinés, bien qu'ils aient également été isolés chez des animaux cliniquement sains (Muñoz et al., 1996; García et al., 2000; Orden et al., 2002; García Meniño, 2013).

Des études récentes ont identifié *Cryptosporidium* comme l'agent le plus fréquemment isolé dans les ruminants nouveau-nés atteints de diarrhée (Snodgrass et al., 1986; Martín-Gómez et al., 1995a; Muñoz et al., 1996; De la Fuente et al., 1998; Joachim et al. 2003; Silverls et al., 2010 a ; García Meniño, 2013). Cela peut être dû à une augmentation de l'incidence de *Cryptosporidium* ces dernières années (De la Fuente et al., 1999), associé à la réduction des cas de diarrhée à rotavirus, ce qui reflète l'efficacité des vaccins contre cette maladie virus qui ont commencé à être commercialisés pour le bétail à la fin de la décennie du quatre-vingts ans (De Graaf et al., 1999b).

### 1- Répartition géographique et prévalence de la maladie

La cryptosporidiose animale est présente sur les six continents, aussi bien dans des zones tropicales que tempérées (O'DONOGHUE, 1995). Le nombre d'études sur la cryptosporidiose des veaux allaitants est beaucoup moins conséquent (Geurden et al., 2007; Budu-Amoako et al., 2012; Murakoshi et al., 2012).

La prévalence de l'infection est beaucoup plus forte chez les jeunes animaux (< 2 mois) que chez les animaux âgés (Santín et al., 2004 ; Fayer et al., 2006, 2007 ; Kváč et al., 2006 ; Mendonça et al., 2007).

**2-Espèces présents :** L'utilisation de la biologie moléculaire a permis l'étude plus fine des espèces du genre *Cryptosporidium* retrouvées chez les ruminants. Cette technique de biologie moléculaire fait intervenir les quatre principales espèces retrouvées chez les bovins : *C. parvum* qui est majoritairement présent chez les jeunes veaux non sevrés, *C. ryanae* et *C. bovis* qui sont retrouvés chez les jeunes animaux sevrés et *C. andersoni* qui devient prépondérant chez les vaches adultes (Santín et al., 2004, 2008).

### **3-Sources potentielles de contamination :**

Chez les ruminants les oocystes peuvent être ingérés lors de la consommation d'aliments ou d'eau souillés, par léchage du pelage ou de la litière, ou bien, lors de contact avec du matériel d'élevage contaminé. En effet, il a été montré qu'un petit nombre d'oocystes de *C. parvum* (<50) pouvait suffire à infecter un veau (Moore et al., 2003 ; Zambriski et al., 2013).

#### **3-1 Les jeunes ruminants :**

Sont la principale source d'oocystes dans l'environnement. De plus, les jeunes ruminants excrètent de grandes quantités d'oocystes (100 à 107-108opg) (Fayer et al., 1998 b ; Trotz-Williams et al., 2007 ; Geurden et al., 2008 a ; Paraud, 2009). Les jeunes individus, les plus sensibles et les plus excréteurs, contribuent donc à une contamination massive du milieu et à une transmission rapide du parasite au sein de l'élevage.

#### **3-2 Les mères :**

Les mères jouent aussi un rôle dans la contamination du milieu mais leur importance est sujette à controverse. Elles représentent une source insidieuse : elles sont excrétrices d'oocystes en l'absence de symptômes. Le rôle des mères en tant que réservoir du parasite est évident lorsque les techniques de détection utilisées sont assez sensibles.

#### **3-3 Animaux adultes :** se sont les porteurs sains asymptomatiques/

#### **3-4 Animaux sauvages, rongeurs :**

Etant sensibles à une contamination par *Cryptosporidium*, les animaux sauvages, tels que les cervidés, les rongeurs, les insectivores et les lagomorphes, constituent une source non négligeable du parasite.

Les mouches, les rotifères et les oiseaux migrateurs, jouent le rôle de transporteurs passifs du parasite (FAYER et al., 2000). Les mouches, par exemple, peuvent héberger des oocystes de *Cryptosporidium* sur leurs surfaces externes, contribuant ainsi à la propagation de celui-ci (MOORE et al., 2003).

**3-5 L'eau :** La fréquence des cas de cryptosporidiose d'origine hydrique chez l'homme peut laisser penser que la consommation d'eau contaminée pourrait être à l'origine de la maladie chez les animaux, et notamment chez les Ruminants.

## **2- Mode de transmission :**

Le mode de transmission principal est le mode fécal-oral : l'hôte ingère les oocystes résistants qui ont été excrétés directement sporulés dans les fèces de l'hôte précédent. Parfois, la transmission de la maladie se fait par inhalation mais cette voie est surtout fréquente chez les Oiseaux.

La transmission chez les animaux peut être directe, c'est-à-dire d'animal à animal, ou de manière indirecte par le biais de la nourriture, de l'eau, mais également du personnel s'occupant des animaux, des locaux ou du matériel utilisés. (FAYER et al., 2000).

La dose infectante serait très faible pour les jeunes ruminants en raison de leur sensibilité à l'infection par *Cryptosporidium* (FAYER, 2004).

## **5-Les facteurs favorisants : se sont les critères de réceptivité et de sensibilité de l'hôte :**

**5-1 - L'espèce :** Tous les ruminants peuvent héberger et excréter des oocystes. Parmi les ruminants domestiques, qui présentent un intérêt en raison des pertes économiques générées par la maladie, les caprins sont les plus sensibles, suivis des bovins et des ovins (CHARTIER et PARAUD, 2010).

**5-2- La race :** La race ne semble pas être un facteur de prédisposition à l'infection. En revanche, le mode de stabulation, de maternité ou la densité de l'élevage qui varient en fonction des races sont des facteurs de risque. NACIRI et al. (1999) ont montré que la prévalence de la cryptosporidiose était plus élevée chez les veaux allaitants que chez les veaux laitiers. En effet, ces derniers sont élevés en box individuels la plupart du temps permettant de limiter les contacts entre les animaux à l'inverse des veaux élevés sous la mère qui ont de nombreux contacts avec leurs congénères.

**5-3- L'âge :** La cryptosporidiose est essentiellement une maladie du nouveau-né. La plupart des cas cliniques se produisent entre l'âge de 5 et 15 jours chez les veaux. La maladie s'observe essentiellement chez les jeunes (< 2 mois) (Causapé et al., 2002 ; Santín et al., 2004 ; Fayer et al., 2006, 2007 ; Castro-Hermida et al., 2007 a et b; Geurden et al., 2008 a ; Paraud et al., 2009).

**5-4 - L'état immunitaire :** la chute ou le manque de compétences immunitaires semblent être corrélées à une augmentation de la sensibilité et de la réceptivité aux cryptosporidies. Les jeunes ruminants sont plus fragiles car leur système immunitaire est encore immature. Des infections mixtes (bactérie/virus et parasite) ont déjà été observées chez les jeunes

ruminants, elles seraient plus fréquentes et plus graves que les mono-infections à *C. parvum* ( Radostits et al., 2000; Gulliksen et al., 2009 ; Silverlås et al., 2010 a et b) .Chez les jeunes ruminants, la prise du colostrum dans les premières heures de vie permet un transfert d'immunoglobulines de la mère vers le nouveau-né, le protégeant alors d'un certain nombre d'infections. Ainsi, un défaut au niveau du colostrum, en quantité et/ou en qualité, est souvent associé à des épidémies de cryptosporidiose en élevage (ANDERSON, 1998).

**6-Facteurs de risques liées aux élevages :** liés à l'apparition de la maladie au sein d'un troupeau dépendent majoritairement de :

**6-1 - Des méthodes de gestion d'élevage :**

A caractère traditionnel ou industriel, box individuel ou non, du type de mise-bas collective ou non), des facteurs hygiéniques (fréquence du nettoyage des bâtiments, ventilation, paillage), ainsi que de la promiscuité entre élevages bovins, caprins et ovins au sein d'une même exploitation (Sischo et al., 2000 ; Hoar et al., 2001).

**6-2-Densité animale :**

Une forte densité animale facilite les contacts entre les individus et ainsi la transmission du parasite. Cette situation peut se retrouver dans des élevages avec une mauvaise conception des bâtiments, qui, associée à une hygiène défailante des locaux et à un renouvellement de l'air insuffisant, facilite la contamination des animaux (PAOLETI, 2002) ; favorisent la contamination massive de l'environnement et ainsi la transmission du parasite (Causapé et al., 2002 ; Delafosse et al., 2006 ; Trotz-Williams et al., 2007, Duranti et al., 2009).

**6-3 - Conduite d'élevage :**

La gestion de l'élevage dans son ensemble peut être à l'origine d'une augmentation de la prévalence de la cryptosporidiose. De nombreuses études ont pu mettre en évidence différents facteurs de risque tels que la présence de nurseries dans l'élevage, le stress d'un sevrage trop précoce, les transports etc. Trotz-Williams et al., 2007 ; Trotz-Williams 2008 , Duranti et al., 2009).

**6-4 - Le bâtiment d'élevage :**

Chez les animaux logés sur un sol en béton, la prévalence d'excrétion des oocystes est plus faible. En effet, ce type de sol facilite son nettoyage régulier par rapport aux sols de type

sable, terre ou graviers. Le curage irrégulier, défaut de paillage, manque de désinfection multipliera les risques de propagation de la cryptosporidiose du fait de la grande résistance des oocystes dans l'environnement associé aux forts niveaux d'excrétion des jeunes ruminants (Fayer et al., 1998 b ; Duranti et al., 2009; Silverlås et al., 2010 a). Il a été montré que le risque de cryptosporidiose était diminué lorsque les veaux sont élevés sur sol bétonné comparé à de la paille et de la terre battue (Castro-Hermida et al., 2002 ; Trotz-Williams et al., 2008).

#### **6-5 - Le rôle de l'épandage du fumier :**

L'épandage de fumier ou de lisier dans le but d'enrichir ou de fertiliser les sols conduit à un recyclage des micro-organismes qui peuvent persister pendant de longues périodes aussi bien sur les végétaux que dans les couches supérieures du sol.

En ce qui concerne *Cryptosporidium*, la survie des oocystes après l'épandage peut être à l'origine de la contamination d'animaux qui pâturent sur ces terres ou qui consomment de l'ensilage d'herbe contaminée.

## VIII DIAGNOSTIC

### 1-Diagnostic symptomatologique

Les signes cliniques d'un animal atteint de cryptosporidiose montre, en général, une très similarités à ceux observés dans d'autres gastro-entérites d'origine infectieuse et en raison d'autres causes. Par conséquent, bien que les données épidémiologiques et la symptomatologie clinique permettant de suspecter une infection à *Cryptosporidium*, des techniques de diagnostic pour confirmer sa présence. Vue l'importance des pourcentages d'infection signalées et la présence de *Cryptosporidium* dans la plus des cas de diarrhée néonatale chez les ruminants.

### 2- Diagnostic de laboratoire

Une grande variété de méthodes de détection de *Cryptosporidium* spp., parmi lesquelles elles incluent des techniques microscopiques, immunologiques et moléculaires :

#### 2-1 Les techniques microscopiques :

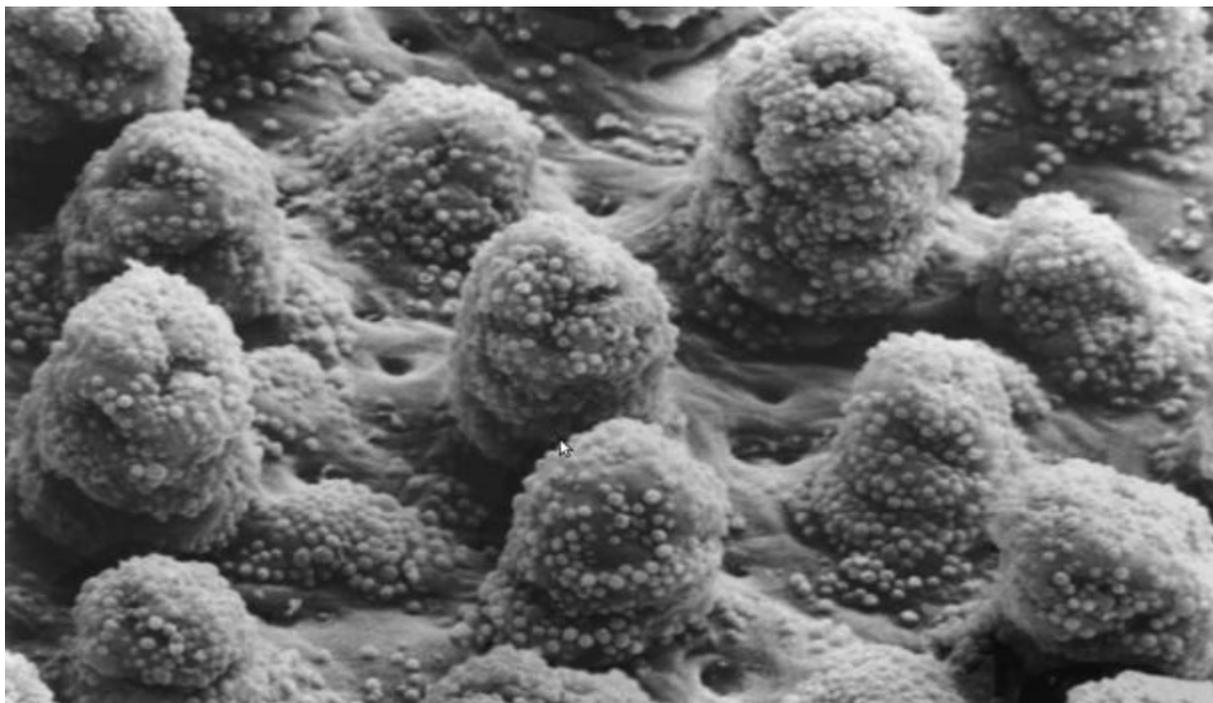
permet identifier le parasite dans les tissus ou les matières fécales et sont généralement rapides et peu coûteux (Potters et Van Esbroeck, 2010).

#### 2-2 Les techniques immunologiques et moléculaires :

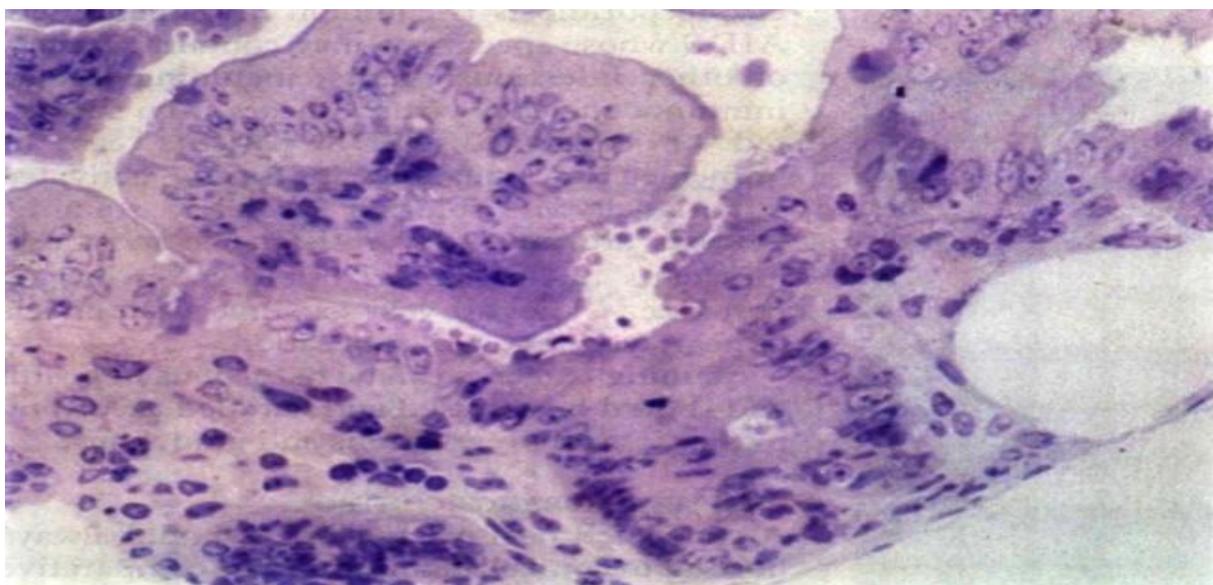
Sont plus complexes et ils représentent un coût plus élevé bien que, généralement, ils offrent de meilleures valeurs de sensibilité et spécificité (Siddons et al., 1992 ; Morgan et al., 1998).

#### 2-1. Techniques microscopiques

**2-1-1. Examen histologique** : jusqu'au début des années 1980, le diagnostic étiologique de la cryptosporidiose était basée sur l'étude de coupes histologiques d'échantillons de tissus intestinale obtenus par biopsie ou par nécropsie, afin de localiser les stades parasites endogènes sur la frontière apicale des entérocytes. Actuellement en microscopie l'optique et / ou l'électronique est utile dans l'étude des aspects histopathologiques et des changements dans la structure cellulaire associée à l'infection, bien qu'ils ne soient pas utilisés pour le diagnostic de routine de la maladie en raison de son caractère invasif, du coût humain et matériel et de sa faible sensibilité.



**Figure n° 8:** Les phases endogènes de *Cryptosporidium* à la surface de l'intestin grêle.  
Microscope électronique à balayage (Vitovec et Koudela, 1988).



**Figure n° 9:** Les phases endogènes de *Cryptosporidium* à la surface de l'intestin grêle.  
Microscope optique (Casemore, 1991).

### **2-1-2. Examen microscopique des fèces :**

Ces méthodes sont basées sur la détection des formes de résistance du parasite dans les matières fécales de l'hôte, constituant des techniques de choix pour leur rapidité et sensibilité. Des échantillons de selles peuvent être vus frais ou conservé dans du formol tamponné à 10% ou dans de l'acétate de sodium / acide acétique / formol (SAF) (Mtambo et al., 1992; Campbell et al., 1993). De plus, la viabilité des oocystes et sa capacité infectieuse peut être préservée avec des conservateurs tels que le dichromate de potassium ( $K_2Cr_2O_7$ ) à 2,5% ou stocké à 4 ° C. Dans les cas où d'autres infections parasitaires, il est recommandé de prélever plusieurs échantillons de selles avec et sans agents de conservation (García, 2007).

#### **2-1-2-1 Méthodes de concentration d'oocystes**

Comme au cours de l'infection aiguë l'animal élimine un nombre élevé d'oocystes, en général, il n'est pas nécessaire de concentrer les formes parasites, qui sont identifiés directement à partir des selles ; de tous modes, il faut tenir compte du fait que l'excrétion d'oocystes peut varier au cours des périodes de paternité. En revanche, les animaux atteints d'infections subcliniques éliminent un nombre réduit d'oocystes, il pourrait donc être nécessaire d'analyser plus d'un échantillon de selles pour confirmer un résultat négatif (Crawford et Vermund, 1988) ; dans ces cas des matériaux pré-concentrés pourraient également être utilisés pour séparer les oocystes de débris fécaux et augmenter la sensibilité (García et al., 1983).

Ont décrit deux grandes méthodes :

##### **2-1-2-1-1 Méthodes physique :**

###### **2-1-2-1-1 -1 Des méthodes de flottation :**

Peuvent être utilisées avec des solutions de densité variable telles que chlorure de sodium saturé, sulfate magnésium, sulfate de zinc ou saccharose de Sheather. Ces techniques permettent d'obtenir échantillons contenant moins de détritux fécaux, bien que certains puissent être perdus oocystes à faible densité (Chalmers et Katzer, 2013).

###### **2-1-2-1-1 -1 -1 Méthode d'Anderson :**

très utilisée, le liquide le plus employé et recommandé pour la concentration des oocystes de *Cryptosporidium* est une solution de saccharose. Cette solution permet de réunir la majorité des oocystes à la surface du liquide et permet une bonne purification du surnageant en

éliminant les levures et les oocystes dégénérés et non viables [Kar et al. (2011)]. Cette technique permet la concentration et la coloration des oocystes, mais le prélèvement ne peut être conservé longtemps car celle-ci déforme les oocystes rapidement (une heure environ) [Broussard (2003)]. Une centrifugation peut être utile pour cette technique pour diminuer le temps de flottation car cette solution est relativement épaisse. **Annexe 2**

**2-1-2-1-1 -2 Des techniques de sédimentation** : la sédimentation utilise des liquides dont la densité est inférieure à celle des éléments parasitaires mais supérieure à celle des débris. Les méthodes de sédimentation sont moins réalisées en routine que les méthodes de flottation. Ces techniques demandent plus de temps et de nombreuses manipulations. Les techniques de sédimentation ne donnent pas un résultat fiable car il y a souvent plus de débris.

**2-1-2-1-1 -3 Les techniques diphasiques** : ont pour principe de mettre l'échantillon de selle en présence de deux phases non miscibles, une phase aqueuse et une phase organique (éther). La concentration des éléments parasitaires dans le culot est due à l'action dissolvante de l'éther et la mise en jeu des deux phases non miscibles qui réalisent pour les éléments fécaux un coefficient de partage dont la valeur n'est pas fixe et dépend de sa balance hydrophile/lipophile [Anonyme].

**2-1-2-1-1-3-1 Technique de Ritchie modifiée par Allen et Ridley (1970)** : C'est une technique de sédimentation dans l'éther-formol, elle est très utilisée en laboratoire humaine (Achire, 2004). Cette technique permet de mettre en évidence les oeufs d'helminthes et les kystes de protozoaires, mais le culot est souvent très abondant.

**2-1-2-1-2 La séparation immunomagnétique (IMS)** : est une méthode immunologique très utile pour récupérer des oocystes dans des échantillons présentant un nombre réduit de formes parasites, en tant qu'étape préalable à l'utilisation de techniques moléculaire (Smith, 2008). Il est basé sur l'utilisation de billes magnétiques dont la surface est trouvée recouverte d'anticorps monoclonaux qui reconnaissent certaines protéines de la paroi de l'oocyste protozoaire ; De cette façon, les particules magnétiques sont attachées à les oocystes, qui peuvent être séparés du reste de l'échantillon par l'action d'un aimant.

Par la suite, les particules magnétiques peuvent être éliminées par addition d'une solution acide, pour obtenir les oocystes purifiés (Campbell et Smith, 1997). Sans Cependant, cette méthode n'est pas couramment utilisée en laboratoire car c'est un technique laborieuse et coûteuse.

### **2-1-2-2 Techniques de coloration des cryptosporidium dans les selles**

De nombreuses techniques ont été décrites pour identifier les oocystes de ce protozoaire. Dans les matières fécales, avec des valeurs de sensibilité très différentes. Parmi les plus utilisés sont coloration au carbol-fuch sine ou coloration négative de Heine, coloration de Ziehl Neelsen modifié et coloration à l'auramine. Techniques de coloration au cryptosporidium dans les extensions de selles De nombreuses techniques ont été décrites pour identifier les oocystes de ce protozoaire. Dans les matières fécales, avec des valeurs de sensibilité très différentes. Parmi les plus utilisés sont au carbol-fuch sine ou coloration négative de Heine, coloration de Ziehl Neelsen modifié et coloration à l'auramine.

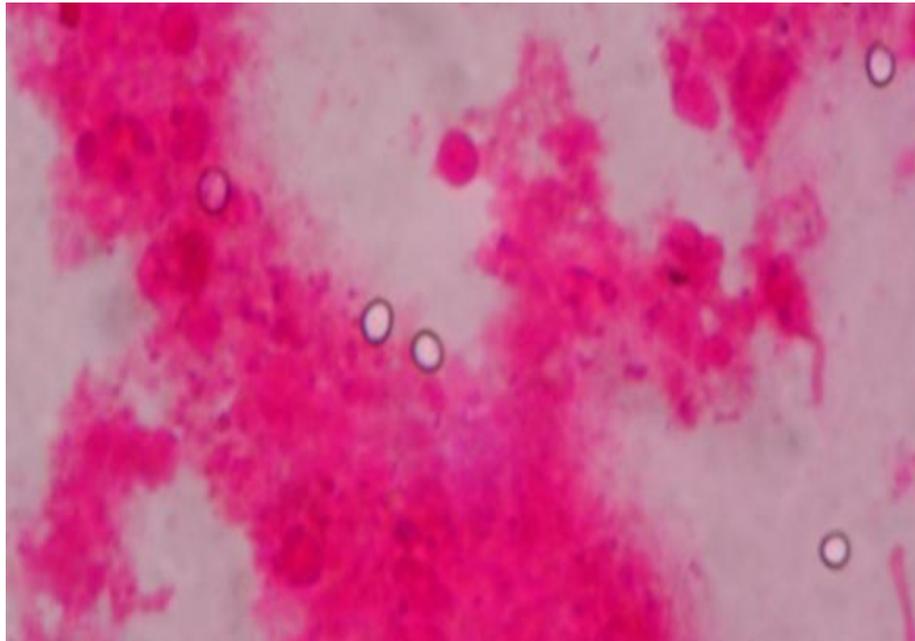
**2-1-2-2-1 Les techniques de coloration temporaires :** Elles sont peu efficaces, mais utilisées pour l'orientation (Tounsi, 2001)

**2-1-2-2-1 -1 La coloration de Heine (Heine, 1982) :** est basée sur l'utilisation de fuch sine basique fenicade qui teint les détrit us fécaux, en soulignant les oocystes non colorés réfractants (Figure 10). Il se distingue par sa rapidité, sa simplicité et son faible coût. Il est donc considéré comme une bonne méthode pour effectuer un dépistage initial, en particulier dans les études épidémiologiques, études préliminaires (Villacorta, 1989, García-Meniño, 2013). Cela montre aussi une bonne concordance avec d'autres techniques plus sensibles. García-Meniño et al., (2013) vérifié que, dans les selles de veaux souffrant de diarrhée, les résultats obtenus avec la technique de Heine a montré une bonne concordance avec ceux observés avec la coloration de auramine ( $\kappa = 0,707$ ) et ELISA direct ( $\kappa = 0,705$ ). Au contraire, dans des échantillons d'animaux sans diarrhée, l'accord était modéré.

La coloration négative présente également des inconvénients :

- les préparatifs ne sont pas permanent et doit être examiné dans les 15 premières minutes suivant son achèvement, ensuite, les oocystes peuvent se déforme et prennent la coloration du fond et sont plus difficiles à identifier (Heine, 1982, Potters and VanEsbroeck, 2010). De plus, les oocystes peuvent être confondus avec les levures présentes dans les matières fécales avec impossibilité de conserver les lames.

Afin d'éviter ces confusions, ils ont décrit les techniques différentielles qui tachent le mur et le contenu du parasite.



**Figure n° 10 :** La tache négative de Heine. Les oocystes, réfringents, restent non colorés.

Les méthodes utilisées pour colorer les organismes acido-alcoo- résistants ont commencé à être utilisées dans l'identification de *Cryptosporidium* après la découverte que le mur des oocystes du parasite résistent à la décoloration avec l'alcool-acide.

#### **2-1-2-2-1 -1 -1 Technique de laboratoire : voire Annexe 3**

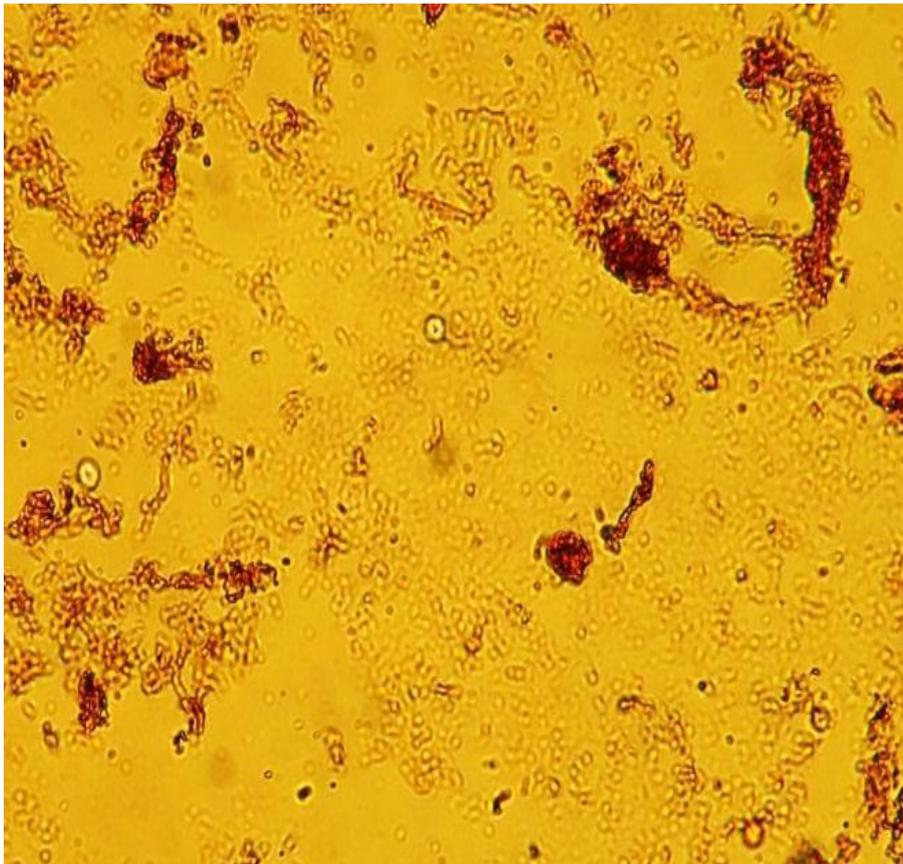
##### **2-1-2-2-1-2 Coloration Auramine-fuchsine carbolique**

Pour augmenter la sensibilité du diagnostic, des techniques basées sur l'absorption d'un fluorochrome par *Cryptosporidium* ont été décrites; Pour cela, une solution phénolique d'auramine qui tache à la fois la paroi externe de l'oocyste et structures internes. [Casemore et al. (1984)].

En outre, l'identification des oocystes est moins subjective et permet l'observation de l'échantillon utilisant un grossissement inférieur (x 200); son plus gros inconvénient réside dans le besoin d'un microscope à fluorescence (Chalmers et Katzer, 2013). Il n'y a pas d'étape de décoloration [Casemore et al. (1985)]. Les oocystes ressortent alors du fond rouge-noir par leur aspect fluorescent. il n'y a pas d'étape de décoloration [Casemore et al. (1984)]. Les oocystes ressortent alors du fond rouge-noir par leur aspect fluorescent

### 2-1-2-2-1-2-1 Technique de laboratoire : voir en annexe 3

**2-1-2-2-1-3 Coloration au lugol :** La préparation est placée entre lame et lamelle. La lecture doit être immédiate car les cryptosporidies commencent à se colorer au bout de 215 minutes. Les éléments parasitaires de *C. parvum* apparaissent non colorés légèrement réfringents sur un fond jaune-orangé (voir figure 22). Les débris sont colorés en orange-brun, lorsque les oocystes se superposent à des débris, ils deviennent difficilement visibles en raison de leur transparence, il est donc parfois nécessaire de diluer les fèces dans du sérum physiologique pour éliminer des débris. Le contraste ne permet pas toujours une bonne visualisation de ces parasites. Quelques autres éléments apparaissent non colorés, mais ceux-ci ne sont pas ronds et n'ont pas la même taille que les oocystes, ils ne peuvent donc pas être confondus. **Annexe 4**



**Figure n° 11 :** Oocystes de *C. parvum* sur une lame colorée par du lugol (objectif x40).

## **2-1-2-2-2 Les techniques de coloration permanentes**

### **2-1-2-2-2 -1 La coloration de Giemsa :**

Cette technique fut la première coloration pour la détection des oocystes de *Cryptosporidium parvum*. Elle peu utilisé et a été remplacée par les techniques de Ziehl-Neelsen.

Grâce à cette coloration, les oocystes sont entourés d'un halo clair. Ils présentent un cytoplasme bleuté granuleux avec un centre plus clair et jusqu'à 6 corpuscules rouge foncé. Les levures sont également colorées en bleu, leur contenu est moins granuleux. La taille et la forme sont donc les deux seuls éléments permettant de différencier les levures des kystes parasites Polack et al. (1983), O'Donoghue (1995).

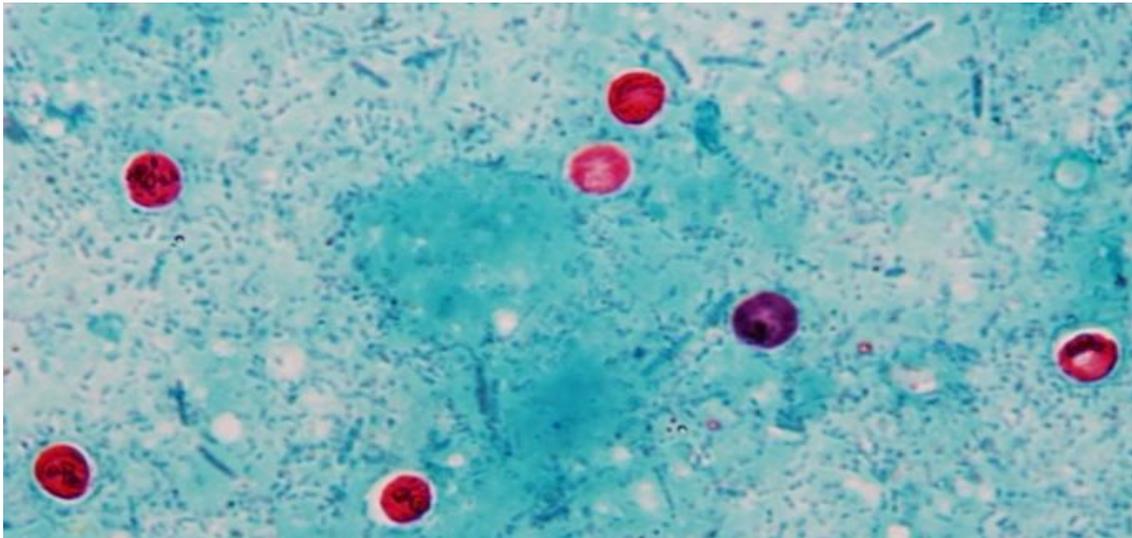
Cette technique est simple à réaliser et permet de conserver la morphologie des éléments parasites. De plus elle permet la conservation des lames colorées.

Inconvénient : résultat insatisfaisant pour la détection des cryptosporidies. Le risque de confusion des kystes parasites avec les levures est important et les lames sont difficiles à lire étant donné le manque de contraste. Cette technique demande donc plus de temps de lecture que d'autres et un personnel plus expérimenté [Khelef et al. (2002), Garcia et al. (1983), Mac Pherson et McQueen (1993)].

### **2-1-2-2-2 -1 -1 Technique de laboratoire : voire Annexe 5**

### **2-1-2-2-2 -2 Coloration de Ziehl Neelsen modifiée Henriksen et Pohlenz ( 1981)**

C'est est une tache permanente qui permet de détecter oocystes protozoaires, qui sont rouge vif sur fond bleu-vert (Figure 2.4). Cette méthode a ensuite été modifiée pour devenir la technique la plus couramment utilisée pour la coloration des oocystes dans des échantillons de selles (Casemore, 1991), et il y a quelques années, elle était considérée comme la technique "de référence". [Garcia et al. (1983), Khelef et al. (2002).



**Figure n°12.** Technique modifiée de Ziehl-Neelsen. Les oocystes sont vus en rouge sur le fond vert-bleu

**2-1-2-2-2 -2-1 Technique de laboratoire : Le protocole donné par Henriksen et Pohlenz (Voir en Annexe 5)**

**2-1-2-2-2 -3 Coloration de Ziehl Neelsen modifiée Angus :** voir protocole en annexe 6  
C'est une technique facile à réaliser, économique à lecture facile mais en cas d'une faible excrétion la lecture est difficile, avec une longue période de conservation des lames et les levures, les débris fécaux et les bactéries prennent la contre coloration.

**2-1-2-2-2 -3-1 Technique de laboratoire :** Le protocole donné par Henriksen et Pohlenz (Voir en Annexe 6)

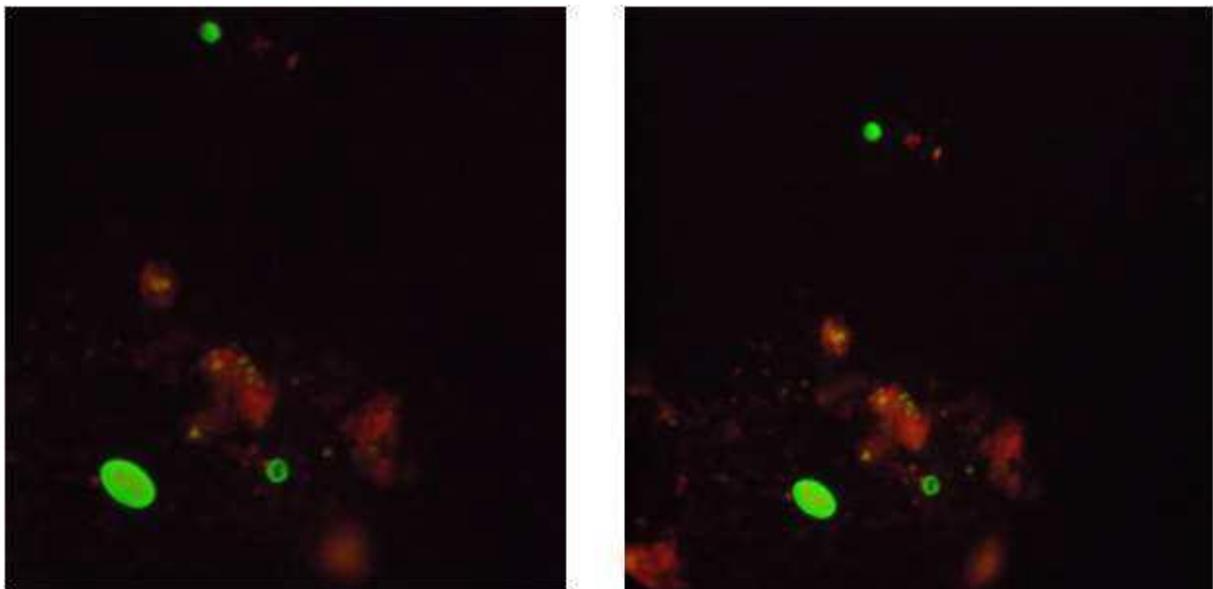
## **2-2 Techniques immunologiques**

**2-2-1 Techniques immunologiques directes :** basées sur la réaction antigène-anticorps, permettre d'identifier des oocystes dans les matières fécales (Sterling et Arrowood, 1986; Stibbs et Ongerth, 1986; García et al., 1987; McLauchlin et al., 1987; Arrowood et Sterling, 1989) . A fin d'éviter les réactions croisées, ces techniques utilisent des anticorps monoclonaux spécifique à *Cryptosporidium* (Rusnak et al., 1989; Anusz et al., 1990; García et al. 1992).

**2-2- 2 Immunofluorescence directe :** Des kits commerciaux utilisant des anticorps monoclonaux dirigés contre des antigènes de surface de l'oocyste couplés à un fluorophore (l'isothiocyanate de fluorescéine : FITC) sont largement utilisés (Fayer et al , 2007). Il existe

différents anticorps monoclonaux (Arrowood et Sterling., 1989 ; Jex et al., 2008) . Ce kit permet de visualiser à la fois les kystes de Giardia, autre protozoaire intestinal, et les oocystes de Cryptosporidium spp (Garcia et Shimizu, 1997 ; Johnston et al., 2003 ; Geurden et al., 2006 b). Il a été mis au point pour la détection des deux principales espèces retrouvées chez l'homme : *C. hominis* et *C. parvum*. D'autres auteurs ont également rapporté la visualisation d'oocystes appartenant à d'autres espèces du genre *Cryptosporidium* (Geurden et al., 2007)

Les oocystes de cryptosporidies sont ronds ou légèrement ovoïdes et apparaissent vert pomme sous filtre FITC (Figure 12). Il est possible d'observer une fluorescence ayant une intensité plus forte sur la circonférence de l'oocyste. Il est important de toujours se référer au témoin positif pour s'assurer que les dimensions, la forme et la couleur de l'oocyste soient compatibles avec ceux du témoin positif.



**Figure 12** : Oocystes de *Cryptosporidium* spp (petits éléments verts) et kystes de *Giardia* (éléments verts de taille moyenne) observés en immunofluorescence après concentration des oocystes (concentration à l'acétate d'éthyle) (X400). (Anses Laboratoire de Niort)

**2-2- 3 Des techniques immunoenzymatiques** : des anticorps anticorps monoclonaux ont été utilisées en détectant les coproantigènes (Anusz et al., 1990; Robert et al., 1990; Siddons et al., 1992). Deux types de méthodes se distinguent : le test ELISA direct et le test immunochromatographie :

**2-2- 3 -1 Détection des antigènes de cryptosporidies par ELISA** : Dans ce cas, ce sont les antigènes de *Cryptosporidium* spp qui sont recherchés dans les fèces (on parle alors de copro-

antigènes) (Garcia et Shimizu, 1997 ; Johnston et al., 2003 ;Smith dans Fayer et Xiao, 2007). De nombreux kits sont commercialisés. Certains sont utilisés pour la recherche d'antigènes dans les fèces et d'autres pour la recherche d'antigènes dans les aliments, l'environnement... (Smith dans Fayer et Xiao, 2007). Selon les kits, les copro-antigènes de cryptosporidies sont détectés et révélés par un mélange d'anticorps monoclonaux et polyclonaux. Ces kits renferment tous les réactifs nécessaires à la réalisation de l'analyse et les instructions du fabricant (Smith dans Fayer et Xiao, 2007).

**2-2- 3-2 Tests immunochromatographique** : Des kits de diagnostic rapide par immunochromatographie (IC) ont également été mis au point pour détecter *Cryptosporidium* spp. Il s'agit de bandelettes sur lesquelles sont fixés des anticorps dirigés contre des antigènes solubles de *Cryptosporidium* spp. Ces derniers, présents dans les matières fécales, migrent sur la membrane où sont fixés les anticorps. La liaison antigène-anticorps est révélée par une bande de couleur (Smith dans Fayer et Xiao, 2007). Cette technique est une technique qualitative, voire semi-quantitative (Chartier et al., 2013).

### **2-2-2 Techniques immunologiques indirectes**

**2-2-2 -1 Les techniques de détection des anticorps sériques (ELISA, immunofluorescence indirect, Western-blot, etc.)** : peuvent être utilisés comme méthode de diagnostic alternative car, chez la majorité des individus, l'excrétion d'oocystes et d'antigènes provenant de Les protozoaires dans les selles sont intermittents. De cette façon, ces techniques sont utiles pour déterminer l'exposition à *Cryptosporidium* et détecter les porteurs asymptomatiques qui éliminent oocystes par intermittence. En outre, ils permettent d'identifier les infections récentes, observer une séroconversion qui se manifeste environ à deux semaines post-infection. Chez les veaux, les anticorps apparaissent entre 6 et 21 jours ( Tzipori et Campbell, 1981, Williams et Burden, 1987, Harp et al., 1990, Whitmire et Harp, 1991).

### **2-3 Test de biologie moléculaire**

#### **2-3-1 Les réactions d'amplification en chaîne par polymérase (PCR)**

Les techniques de détection d'acide nucléique permettent l'identification de l'espèce de *Cryptosporidium* spp et sont reconnues comme étant théoriquement plus sensibles que les techniques immunologiques et de coloration (Monis et al., 2005 ; Geurden et al., 2006 b ;; Xiao et Ryan, 2007 ; Jex et al., 2008).

La PCR est ainsi décrite comme étant plus sensible que les techniques de diagnostic conventionnelles pour détecter la présence de *Cryptosporidium* dans les matières fécales, bien que la sensibilité des méthodes PCR publiées soit variable (Xiao et Ryan , 2007). Geurden et al. (2006 b) ont rapporté une spécificité de 100% et une sensibilité de 59 à 79% (selon les protocoles de nested-PCR) comparées aux techniques de microscopie et immunologiques (IF et ELISA).

Les principales séquences cibles utilisées pour l'identification des espèces de *Cryptosporidium spp* sont la petite sous-unité de l'ARN ribosomal 18S (PCR 18S), la protéine de choc thermique HSP 70 et la protéine de paroi de l'oocyste COWP (Xiao et al., 1999, 2000, 2001 ; Sulaiman et al., 2000 ; Soba et al., 2006 ; Trotz-Williams et al., 2006 ; Xiao et Ryan dans Fayer et Xiao, 2007 ; Jex et al., 2008).

Il n'existe pas de protocole PCR « standard » pour l'identification des espèces ou sous type de *Cryptosporidium spp*. Cependant, un des éléments importants dans la réalisation de la technique est le choix (ou dessin) des amorces, car certaines ciblent des régions conservées du gène cible (spécifique du genre *Cryptosporidium* par exemple) et d'autres ciblent des régions polymorphiques du gène cible permettant de différencier les espèces du genre. Des protocoles de RFLP ou de séquençage sont couplés aux PCR (excepté pour la PCR quantitative). Ce sont ces deux techniques, une fois l'ADN d'intérêt amplifié, qui nous permettent d'identifier l'espèce ou les espèces en présence (Xiao et al., 1999 ; Feng et al., 2007 ; Imre et al., 2011 ; Kvač et al., 2011 ; Ruecker et al., 2011).

# Partie Expérimentale

## **I - OBJECTIFS**

La cryptosporidiose chez le veau à une importance majeure en médecine vétérinaire. Elle occasionne des diarrhées plus moins au cours des premières semaines de vie du veau, occasionnant des pertes économiques non négligeables. Depuis l'emploi de la vaccination contre le rotavirus, le coronavirus et le colibacille K99+, les cryptosporidies sont devenue de plus en plus fréquemment isolées dans le cadre des diarrhées néonatales.

En Algérie l'étude épidémiologique des diarrhées à cryptosporidies chez le veau au cours des quatre premiers mois de vie est mal connue. Les objectifs de ce travail sont :

- Etude de la cryptosporidiose chez les veaux: prevalence selon le statut clinique des veaux (sains et diarrhéiques) ainsi que la détermination de l'intensité et le degré d'infestation (niveau d'excrétion des oocystes).
- Etude des facteurs de risque à l'échelle de veau (race, sexe, âge, conditions physique et statut clinique), d'une part et à l'échelle des élevages (type d'élevage, type de sol des élevages, type des salles d'élevage, conditions d'hygiènes des élevages).
- Analyse objective basée sur les inférences statistique des résultats des différents points relatifs au veau et à la gestion des élevages, dans le but d'identifier les points faibles liées au veau et aux élevages (facteurs de risques incriminées) dans la région de l'étude pour le développement du moyen de prevention et de control de cette parasitose.

## **II- Matériels et méthodes :**

### **1- Zones d'étude :**

L'étude a été réalisée au sein de la région Est de l'Algérie et les élevages s'étendent respectivement sur trois wilayas (Annaba, Eltarf et Souk Ahras) . (Figure1)

### **2- Population d'étude :**

Dans cette étude des élevages traditionnels et des petites exploitations qui ont été échantillonnées et les matières fécales ont été examinées pour *Cryptosporidium* spp. Les veaux échantillonnés (mâles et femelles) ont été classés en quatre groupes en fonction de la tranche d'âge : groupe 1 = 0-30 jours, groupe 2 = 31-60 jours, groupe 3 = 61-90 jours et groupe 4 = 91-120 jours.

### **3-Conception de l'étude et stratégie d'échantillonnage :**

Une étude transversale a été entreprise à partir du mois d'Octobre 2016 jusqu' au mois de mai 2017, pour déterminer la prévalence de la cryptosporidiose chez les veaux, évaluer les facteurs de risque associés dans les élevages traditionnels et chez les petites exploitations d'une part, et chez les veaux croisés et locaux d'autre part.

Les informations sur les importantes caractéristiques de la gestion et les conditions hygiéniques observées au niveau des élevages ont été enregistrées. Les informations obtenues auprès des éleveurs par entretiens et observations faites lors de la visite ont été recueillies dans le tableau 1. Les réponses à certaines questions ont été utilisées comme des variables pour expliquer et analyser les résultats pour *Cryptosporidium* spp. Les conditions d'hygiène dans les élevages ont été classées selon des aspects tels que : l'accumulation de matières fécales, les odeurs, le drainage des déchets, propreté des sols et des animaux, ventilation de l'étable, source de la lumière et la densité d'animaux comme suit : bonne hygiène, moyenne hygiène, et mauvaise hygiène.

Le type de sol des bâtiments d'élevage est classé selon la présence ou non du ciment , non cimentés, partiellement cimentés, ainsi que le type de la salle d'élevage avec ou sans accès (Ouvert, fermé) ; ont été subjectivement évalué. Tableau 1



**Figure 1:** Démonstration géographique de la région d'étude ( Les trois régions de l'extrême est de l'Algérie incriminées l'étude.



L'âge et le sexe ont également été enregistrés. En même temps, l'information sur la présence ou non de la diarrhée chez les veaux a été collectée. L'estimation des conditions physiques (gain de corps d'animaux et les signes de mauvaise santé) est un autre facteur enregistré lors de la collecte de l'échantillon. Annexe 1.

### **3- Prélèvement d'échantillons fécaux :**

Au cours de la visite de chaque élevage, un seul échantillon frais des selles a été prélevé directement du rectum. Les 20 élevages concernés par l'étude ont été choisis aléatoirement. Le nombre total des échantillons était de 340 (veaux de race locale et améliorée), répartis en 3 wilayas comme suites :

- 8 élevages dans la wilaya d'Annaba avec 206 prélèvements.
- 8 élevages dans la wilaya d'Eltarf avec 100 prélèvements.
- 4 élevages dans la wilaya de Souk-Ahras avec 34 prélèvements.

#### **3-1 Matériel utilisé pour les prélèvements :**

- \* Des gants en plastique.
- \* Des pots ou flacons stériles en plastique, étanches, bien fermés et étiquetés.
- \* Glacière pour la conservation du prélèvement pendant leur cheminement.
- \*Etiquettes autocollantes pour écrire les renseignements.
- \*Marqueur.

Les échantillons ont été conservés et rapidement transportés après collection. Ils ont ensuite été stockés à 4 ° C et traités dans les 48 heures (Laboratoire de parasitologie Ibn Sina, Hopital d'Annaba).

Au moment de l'échantillonnage, le nom de l'exploitation (propriétaire), la date du prélèvement, la consistance des fèces (score 0-1, 0: non diarrhéique, 1: diarrhéique), l'âge, le sexe, la race et l'adresse ont été enregistrés pour chaque veau sur un format d'enregistrement des données.



**Figure 2** : Prélèvement des matières fécales chez un veau (personelle 2017 )

### **3- Matériels de laboratoire utilisés pour l'examen parasitologique :**

#### **4-1 - Matériel utilisé pour la technique d'enrichissement (technique de Ritchie simplifiée par Allen et Ridley 1981) :**

\*Verre à pied conique.

\*Agitateur en verre.

\*Tubes conique.

\*Centrifugeuse.

\*Pipette pasteur.

\*Lames- port objet.

\*Lamelles.

\*Pissette.

\* Balance électrique.

\*Portoirs.

\*Eau distillée.

\*Microscope optique.

**- Réactifs :**

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

- Ether diéthylique.

- Colorant : lugol.

**4-2 - Matériel utilisé pour la coloration Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Phlenz 1981**

\* Lames.

\*Bacs à coloration.

\*Porte-lame.

\*Minuterie.

\*Microscope optique.

\* Eau distillé et eau de robinet.

\*Huile à immersion

**- Réactifs :** - Méthanol pur

- Fushine phéniquée de Ziehl modifiée préparé au laboratoire, elle est composée de :

Solution A .....10ml

Slution B.....90ml

Solution A composée de :

- Fushine basique.....15 ml
- Ethanol à 95%.....100 ml

NB : laisser reposer le réactif et filtrer avant l'emploi.

Solution B composée de :

- Phénol.....5 g
- Eau distillée.....100 ml

- Acide sulfurique à 2 % : préparer au laboratoire

\* Eau distillée .....196 ml

\* Acide sulfurique concentré.....4 ml

NB : verser l'acide goutte à goutte dans l'eau.

-Vert de malachite à 5 % préparé comme suite :

\* Poudre de vert de malachite.....5 g

\* Eau distillée.....100 ml

NB : laisser reposer le réactif et filtrer avant l'emploi.

**5- Mise en évidence des oocystes des *Cryptosporidium* spp. :** Deux grandes étapes réalisées :

-La première étape : consiste à la concentration des prélèvements par la technique de **Ritchie simplifiée par Allen et Ridley (1970)**.

-Deuxième étape : pour la recherche des oocystes de *Cryptosporidium* spp. , nous avons appliqué la technique de coloration de **Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Phlenz (1981)**.

#### **5-1- Technique de Ritchie simplifiée par Allen et Ridley (1970).**

C'est une technique diphasique, qui met en jeu la balance de deux phases non miscibles, l'une hydrophile (aqueuse) et l'autre lipophile du parasite.

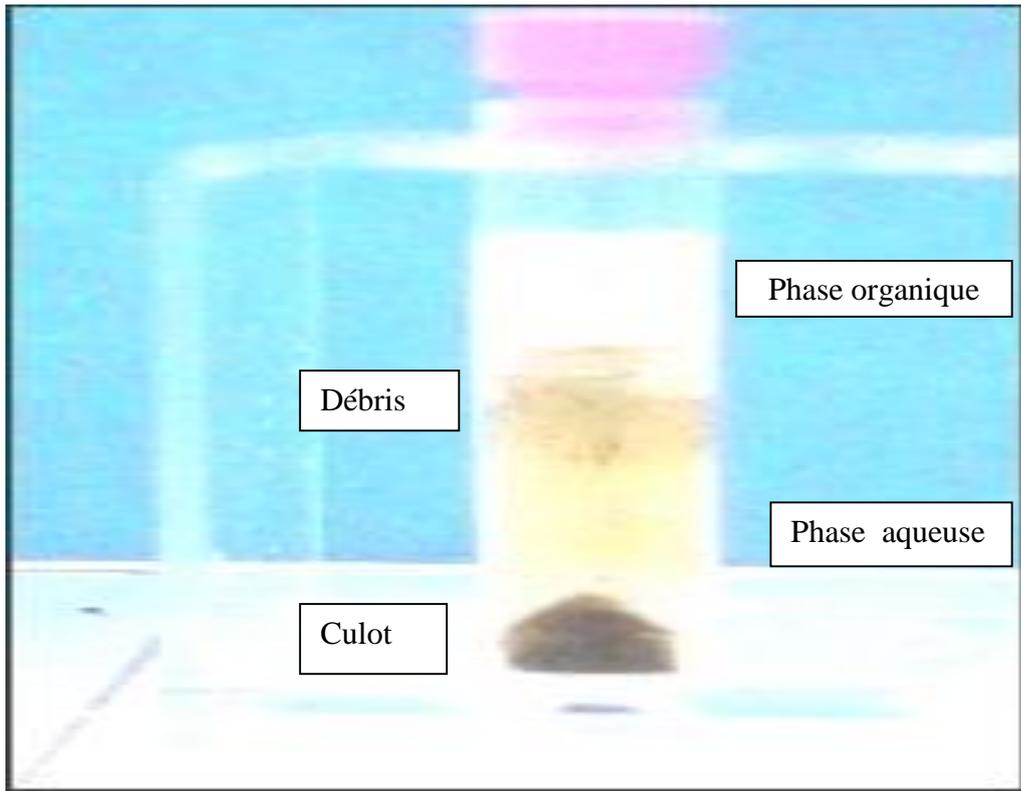
Cette technique est très utilisée dans les laboratoires de parasitologie, car elle est simple et ne nécessitant que des réactifs à la portée de tous.

### **5-1-1: Mode opératoire:**

- Déposer quelques grammes de selles (3 à 5 g) dans un verre à pied conique à l'aide d'un agitateur en verre.
- Verser dans le verre à pied un volume d'eau formolée à 10 %, 2 à 3 fois supérieur à celui des selles.
- Agiter à l'aide d'un agitateur en verre jusqu'à l'obtention d'une dilution homogène.
- Laisser décanter quelques minutes (1 à 2 minutes), pour éliminer les gros débris fécaux.
- A l'aide d'une pissette, aspirer une partie du surnageant et verser dans un tube conique en verre équivalent à 2/3 du volume total à émulsionner.
- Ajouter un volume d'éther correspondant à 1/3 du volume total à émulsionner.
- Boucher le tube avec un bouchon en caoutchouc, tout en prenant soin de laisser un espace vide pour le liquide d'environ 1cm, pour permettre l'émulsion.
- Agiter le tube vigoureusement pendant une minute.
- Passer les tubes pour équilibrer avant la centrifugation.
- Centrifuger à 2. 500 tours/minutes pendant 5 minutes après centrifugation, le contenu du tube se répartit en 4 couches qui sont de haut en bas :
  - Une couche étherée chargée en graisse.
  - Une couche épaisse sous forme d'anneau, constituée de gros débris.
  - Une couche aqueuse.
  - Un culot dans lequel se sont concentrés les éléments parasitaires.
- Jeter énergiquement le surnageant et garder le culot.

A l'aide d'une pipette pasteur mélanger avec une goutte de culot. (Figure 3)

Cette technique est très utilisée dans les laboratoires de parasitologie car elle est simple et ne nécessite que des réactifs à la portée de tous. C'est une bonne méthode d'enrichissement préalable à une coloration de ZNM pour la recherche des Cryptosporidies.



**Figure 3** : Séparation des différentes phase après centrifugation ( personelle 2017 ).

## **5-2 Technique de Ziehl-neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz(1981)**

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

### **5-2-1 Mode opératoire :**

#### **5-2-1-1 Confection d'un frottis fécal :**

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

A l'aide d'une pipette pasteur, on prélève 1 à 2 gouttes du culot de centrifugation, 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, déposer la goutte à l'une des extrémités de la lame, la mettre en contact avec le bord d'une autre lame ; la goutte diffuse sur le bord de la lame par capillarité, ensuite l'étaler sur toute la surface de la lame et d'une manière continue en zigzag, sans revenir au point de départ, on obtient alors un frottis

mince avec plusieurs épaisseurs, c'est le cas d'un bon frottis. Laisser sécher à l'air jusqu'à une nuit.

#### **5-2-1-2 Fixation et coloration du frottis :**

- Fixer le frottis au méthanol pendant 5 minutes.
- Laisser sécher à l'air.
- Colorer dans une solution de fuchsine phéniquée pendant 60 minutes.
- Rincer à l'eau du robinet.
- Décoloration avec une solution d'acide sulfurique 2/ pendant 20 secondes (pour décolorer ou éliminer les débris et les autres micro-organismes).
- Rincer à l'eau de robinet.
- Coloration par de vert de malachite à 5% pendant 5 minutes (tout vas être coloré en vert sauf les cryptosporidies qui gardant la coloration rouge).
- Rincer à l'eau du robinet.
- Laisser sécher à l'air.
- La lecture se fait au microscope à l'objectif (10 x 40 et 10 x 100 à l'immersion) sur toute la surface de la lame.

Cette technique permet de visualiser nettement les oocystes de *Cryptosporidium spp.* , qui sont colorés par cette technique en rouge vif, parfois en rose sur un fond vert. **Figure 4**

**NB :** la lecture doit être faite sur toute la surface de la lame de haut en bas et de gauche à droite.

Le diagnostic est dit positif, quant un oocyste ainsi que ses constituants internes sont visualisés (corps résiduel, 4 sporozoïtes de 5,2 µm de longueur en moyenne sur 4,6µm de largeur en moyenne). Il est dit négatif quand aucun oocyste n'est visualisé après observation de 100 champs microscopiques.

#### **6-Calcul du degré de l'infestation :**

Devant l'absence de méthode d'estimation quantitative de la présence de *Cryptosporidium parvum*, le calcul du degré de l'infestation a été évalué par une méthode semi-quantitative, avec une légère modification en cas d'infestation massive. Le frottis coloré est observé au grossissement 10 x 100 à l'immersion.

| Degré d'infestation | Note | Nombre moyen d'oocystes / champs |
|---------------------|------|----------------------------------|
| Infestation faible  | +1   | 1 à 4 oocystes                   |
| Infestation moyenne | +2   | 5 à 10 oocystes                  |
| Infestation élevé   | +3   | + de 10 oocytes                  |

## 6-1 Analyse statistique des données :

### 6-1-1- Analyse statistique du degré d'infestation et d'excrétion des oocystes de

*Cryptosporidium spp* : pour les veaux diarrhéiques et non diarrhéiques en fonction de la tranche d'âge des veaux concernés par notre travail (moins de quatre mois) on a utilisé le logiciel R et le test de corrélation de Pearson pour déterminer si la corrélation entre les variables est significative, il faut comparer la valeur de p à un seuil de signification alpha ou  $\alpha$  de 0,05. Un  $\alpha$  de 0,05 indique que le risque de conclure à l'existence d'une corrélation lorsqu'en réalité il n'y en a pas est de 5 % (intervalle de confiance IC). La valeur de p indique si le coefficient de corrélation est significativement différent de 0 :

Si la valeur de  $p \leq \alpha$  : la corrélation est statistiquement significative

Si la valeur de p est inférieure ou égale à notre seuil de signification  $\alpha = 0,05$ , nous pouvons conclure que la corrélation est différente de 0.

Si la valeur de  $p > \alpha$  : la corrélation n'est pas statistiquement significative

Si la valeur de p est supérieure à notre seuil de signification  $\alpha = 0,05$ , nous ne pouvons pas conclure que la corrélation est différente de 0.

Le coefficient de corrélation entre les variables peut être positif ou négatif.

**6-1-2-1 Etude descriptive :** Pour chaque veau examiné, les informations relative à l'enquête épidémiologique ont été enregistrées, saisies et gérées dans une base de données établie dans une feuille de calcul Microsoft Excel pour Windows 2007. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel SPSS version 16 pour Windows. Cette analyse statistique descriptive a été utilisée pour estimer la prévalence de l'infection chez les veaux par rapport aux différents facteurs de risques liés aux veaux d'une part et les caractéristiques des élevages d'autre part avec leurs intervalles de confiance à 95 %.

Le Calcul de la prévalence ponctuelle a été calculée pour toutes les données en tant que nombre d'individus infectés divisé par le nombre d'individus échantillonnés X 100 avec le calcul de l'intervalle de confiance IC à 95 % pour chaque donnée.

**6-1-2-2 Etude analytique et statistique des variables :** ces variables liées à l'animale et au caractéristiques des élevages ont été saisies et gérées dans une base de données établie dans une feuille de calcul Microsoft Excel pour Windows 2007 et analysées avec les logiciels statistiques de SPSS pour Windows (version 11.5) et de STATA pour Windows (version 7). La prévalence ponctuelle a été calculée pour toutes les données en tant que nombre d'individus infectés divisé par le nombre d'individus échantillonnés X 100 avec le calcul de l'intervalle de confiance IC à 95 % pour chaque donnée.

Les données catégoriques ont d'abord été analysées à l'aide du test de Chi-carré (2) pour l'indépendance en tant que processus de dépistage. L'intervalle de confiance (IC) à 95% représente la fourchette de valeurs à l'intérieur de laquelle nous sommes certains à 95% de contenir la vraie valeur du paramètre estimé ou recherchée.

Ce test a été suivi d'une régression logistique multivariée par étapes afin de tenir compte des variables de confusion et des interactions. Une valeur de  $P < 0,05$  était requise pour la signification. Les odds ratios (OR) ont été déterminés à partir des coefficients de la régression logistique (IC : intervalle de confiance à 95 % de l'OR).

### III- Résultats

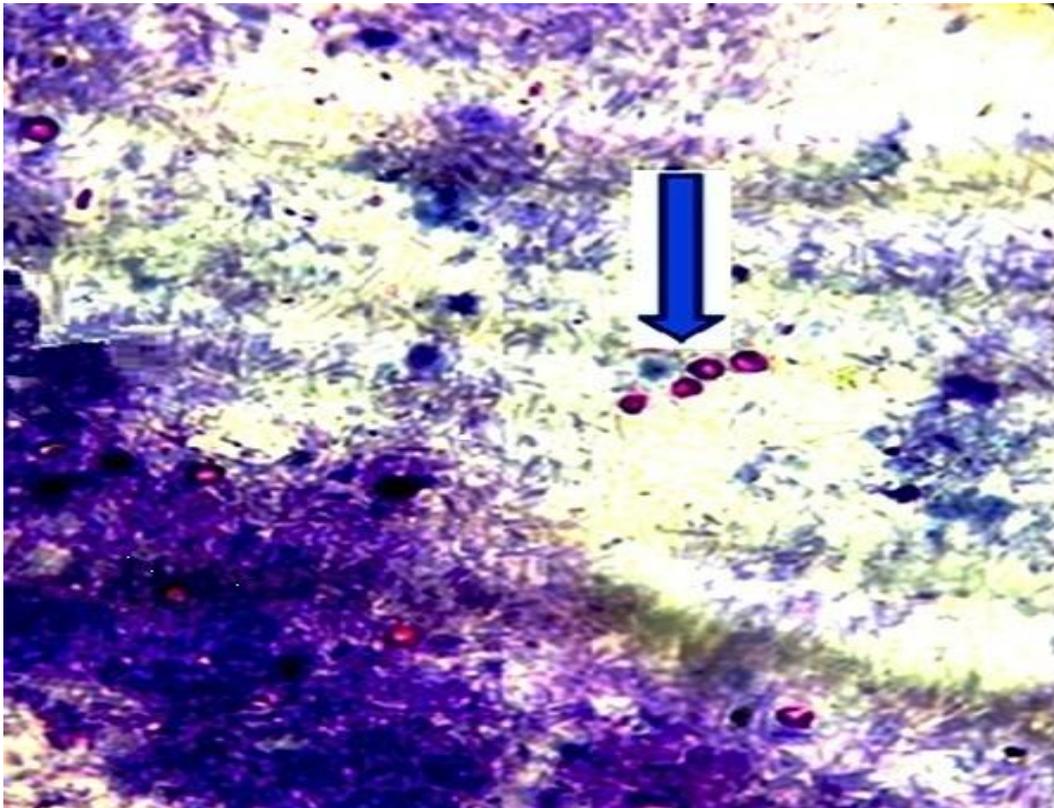
**Tableau 1 :** Importantes caractéristiques de gestion observées au niveau des élevages.

| Type d'élevage              | Traditionnel   | Petites exploitations            |
|-----------------------------|--|----------------------------------|
| Type de bâtiments           | Hangars, bergerie  | Hangars, Habitation              |
| Nature du sol               | Sol Partiellement cimenté                                    | Sol totalement cimenté (béton)   |
| Aération via les ouvertures | Unilatérale ou pas d'ouverture                               | Bilatérales                      |
| Luminosité de l'étable      | Insuffisante   | Suffisante                       |
| Surface de couchage         | Insuffisante   | Suffisante                       |
| Nature de la litière        | Paille et copeau de bois                                     | Paille, Sciure et mélange        |
| Quantité de la litière      | Insuffisante   | Suffisante                       |
| Raclage (fois/jour)         | Pas de raclage ou une fois par jours                         | Une fois par jours               |
| Etat de propreté            | Très sale  | Sale                             |
| Condition d'hygiènes        | Pauvre et insatisfaisant                                     | Pauvre et insatisfaisant         |
| Type de salle d'élevage     | Sans accès a l'extérieure                                    | Avec accès a l'extérieure        |
| Système d'élevage           | Habituellement semi extensif                                 | Habituellement semi extensif     |
| Présence d'autre animaux    | Oui (chèvres, moutons, chiens, oiseaux)                      | Oui (moutons)                    |
| Lieu d'élevage              | Rurale   | Périurbain                       |
| Nature de l'alimentation    | Herbe vert de prairie, paille et pain rassis                 | Fourrage vert, paille, concentré |
| Race                        | Locale et amélioré   | Amélioré                         |
| Source d'eau                | L'eau du robinet, Puits peu profonds, rivière, étang, pluie. | Forage, eau du robinet           |



**Figure 3 :** Un élevage traditionnel des veaux (Personnelle 2017)

**1- Mise en évidence des oocystes de *Cryptosporidium* spp :**



**Figure 4 :** Oocystes de *Cryptosporidium* observés dans des frottis fécaux de veaux (X100) (Personnelle 2017).

Dans la présente étude le nombre des veaux incriminés est variable de 4 à 40 veaux dans les différents élevages, 19 élevages représentaient au moins 2 veaux excréteurs d'oocystes de *Cryptosporidium* spp. sur les 20 élevages concernés par ce travail. La prévalence de la cryptosporidiose dans l'ensemble des trois régions est variable de 0-100 %, soit 82

| Région            | élevages | Nombre de veaux examinés | Nombre de veaux positifs | Prévalence % |
|-------------------|----------|--------------------------|--------------------------|--------------|
| <b>Annaba</b>     | 1        | 40                       | 4                        | 10 %         |
|                   | 2        | 30                       | 5                        | 16,66 %      |
|                   | 3        | 42                       | 5                        | 11,90 %      |
|                   | 4        | 20                       | 6                        | 30 %         |
|                   | 5        | 27                       | 10                       | 37,03%       |
|                   | 6        | 22                       | 7                        | 31,81%       |
|                   | 7        | 15                       | 4                        | 26,66 %      |
|                   | 8        | 10                       | 3                        | 30 %         |
| <b>Eltarf</b>     | 9        | 15                       | 3                        | 20 %         |
|                   | 10       | 10                       | 4                        | 40 %         |
|                   | 11       | 20                       | 3                        | 15 %         |
|                   | 12       | 10                       | 0                        | 0 %          |
|                   | 13       | 20                       | 7                        | 35 %         |
|                   | 14       | 10                       | 3                        | 30 %         |
|                   | 15       | 10                       | 5                        | 50 %         |
|                   | 16       | 5                        | 5                        | 100%         |
| <b>Souk Ahras</b> | 17       | 10                       | 4                        | 40 %         |
|                   | 18       | 10                       | 2                        | 20 %         |
|                   | 19       | 10                       | 2                        | 20 %         |
|                   | 20       | 4                        | 0                        | 0 %          |
|                   | Total    | 340                      | 82                       | 24,11 %      |

prélèvements positifs à la recherche des oocystes de *Cryptosporidium* spp. sur le totale de 340 prélèvements réalisés avec une prévalence globale de 24,11 % (82/340).

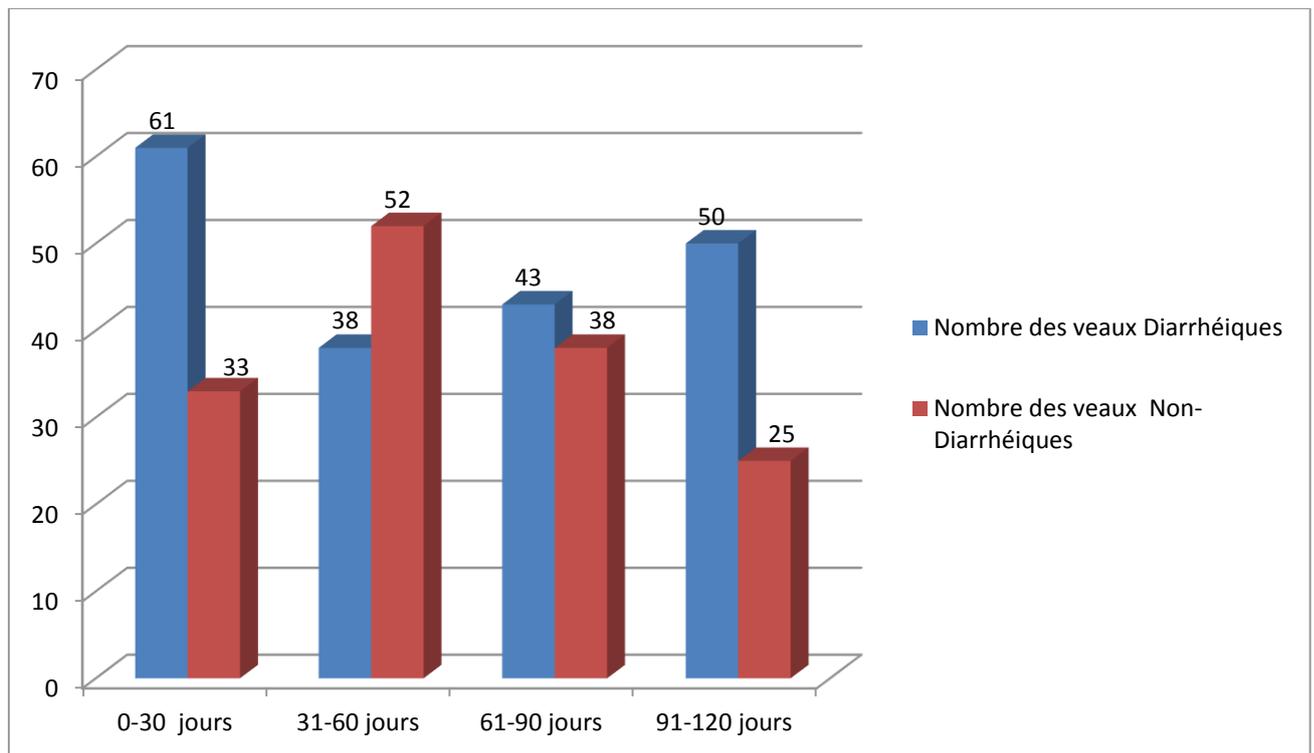
Dans la wilaya d'Annaba nous avons mentionné une prévalence de 22,81 % (47 /206), on à noté un taux de prévalence de 30 % (30/100) et de 23,52 % (8/34) dans les wilayas d'Eltarf et Souk-Ahras respectivement. Tableau 2

**Tableau 2 :** Distribution de nombres des veaux examinés et des veaux positifs à Cryptosporidies dans les différents élevages.

Les résultats mentionnés dans le tableau 3 et figure 6 indiquent que sur 340 veaux, 192 échantillons ont été classée comme matières fécales diarrhéiques et 148 échantillons comme matières fécale non diarrhéiques.

**Tableau 3 :** Effectifs de veaux diarrhéiques et non diarrhéiques en fonction de leur âge.

| Tranche d'âge | Nombre des veaux Diarrhéique | Nombre des veaux Non- Diarrhéique |
|---------------|------------------------------|-----------------------------------|
| 0-30 jours    | 61                           | 33                                |
| 31-60 jours   | 38                           | 52                                |
| 61-90 jours   | 43                           | 38                                |
| 91-120 jours  | 50                           | 25                                |

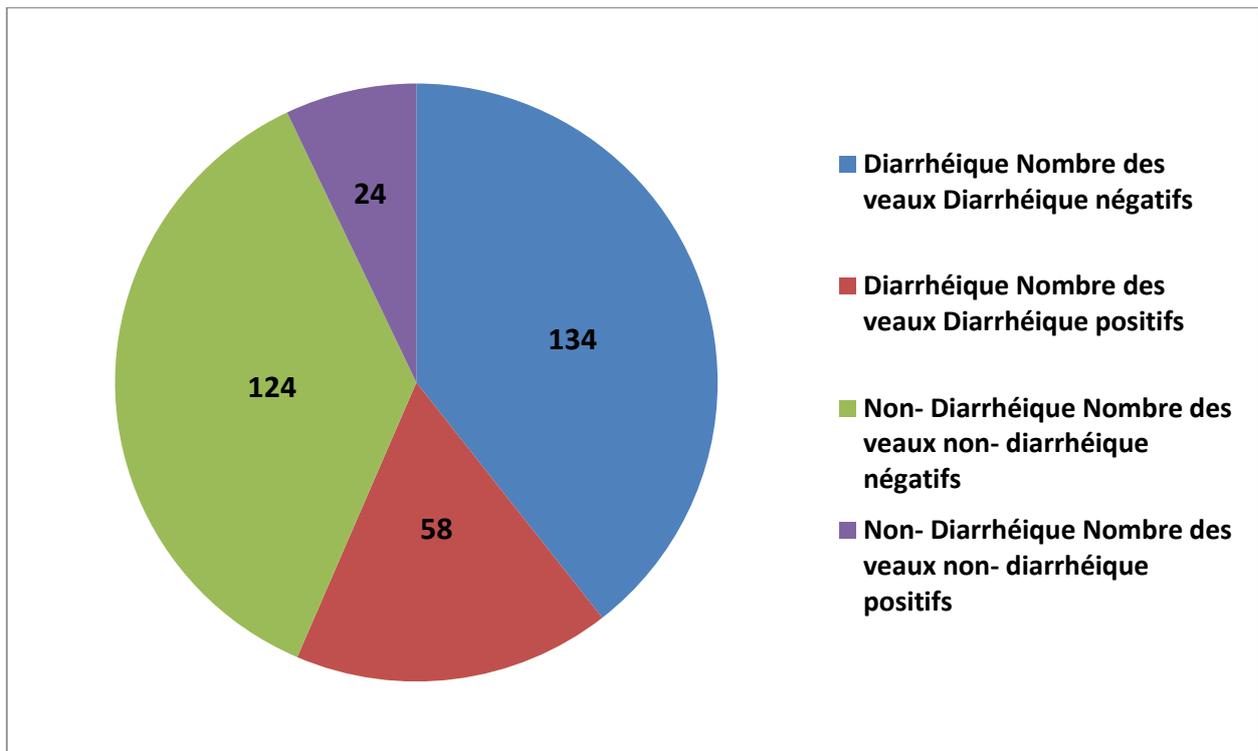


**Figure 6 :** Histogramme représentant les effectifs de veaux diarrhéiques et sains en fonction de leur âge.

Selon les résultats du tableau 4 et figure 7 au sein de la population de veaux de l'étude, 82 veaux sont positifs dont 58 veaux diarrhéiques et 24 veaux sains. Parmi les 192 veaux diarrhéiques et 148 veaux non diarrhéiques, 134 et 124 veaux ne présentent pas du parasitisme respectivement.

**Tableau 4 :** Nombre négatifs et positifs de veaux diarrhéiques et non diarrhéiques.

| Statut des veaux                       |  |   |   |
|--|--|---|---|
| Diarrhéiques                           |  | Non- Diarrhéiques                           |   |
| Nombre des veaux Diarrhéiques négatifs | Nombre des veaux Diarrhéiques positifs | Nombre des veaux non- diarrhéiques négatifs | Nombre des veaux non- diarrhéiques positifs |
| 31                                     | 30                                     | 23  | 10  |
| 24                                     | 14                                     | 43  | 9   |
| 35                                     | 8                                      | 34  | 4   |
| 44                                     | 6                                      | 24  | 1   |
| 134                                    | 58                                     | 124   | 24  |



**Figure 7 :** Diagramme donnant la répartition des effectifs de veaux de l'étude en fonction de leur statut clinique et de leur parasitisme.

## 2- Etude de la variation de degré de l'infestation

### 2-1 En fonction de l'âge

La présence des cryptosporidies est relevée pratiquement dans toutes les tranches d'âge des veaux, de 1 à 120 jours. Les résultats mentionnés dans les tableaux 3 et 5 montrent que le veau est infesté par *Cryptosporidium spp.* dès le 1<sup>er</sup> moi de la vie avec une grande réceptivité pour le parasite (40 prélèvements positifs sur 94 prélèvements analysés, soit 42,55 %). Dans la 2<sup>ème</sup> tranche d'âge (31-60 jours), les veaux montrent un degré d'infestation de 25,55 %, en effet sur 90 prélèvements, 23 sont positifs. L'excrétion parasitaire se maintient pendant le troisième et le quatrième mois ou sur 81 prélèvements 12 sont positifs (soit 14,81 %) et sur 75 prélèvements 7 sont positifs soit un taux de 9,33 % respectivement. À partir d'un mois d'âge, l'infestation commence à diminuer, mais les animaux restent porteurs et excréteurs.

**Tableau 5 :** Degré d'infestation des matières fécales par *Cryptosporidium spp* en fonction de l'âge des veaux.

| Tranche d'âge        | Nombre de veaux examinés | Nombre de prélèvements positifs % | Degré d'infestation |              |              |
|----------------------|--------------------------|-----------------------------------|---------------------|--------------|--------------|
|                      |                          |                                   | +1<br>Nbre %        | +2<br>Nbre % | +3<br>Nbre % |
| <b>0-30 jours</b>    | 94                       | 40 42,55%                         | 4 10%               | 8 20%        | 28 70%       |
| <b>31-60 jours</b>   | 90                       | 23 25,55 %                        | 6 26,08%            | 8 34,78%     | 9 39,13%     |
| <b>61-90 jours</b>   | 81                       | 12 14,81 %                        | 5 41,66%            | 4 33,33%     | 3 25%        |
| <b>91 -120 jours</b> | 75                       | 7 9,33 %                          | 4 57,14%            | 2 28,57%     | 1 14,28%     |
| <b>Total</b>         | 340                      | 82 24,11 %                        | 19 23,17%           | 22 26,82%    | 41 50%       |

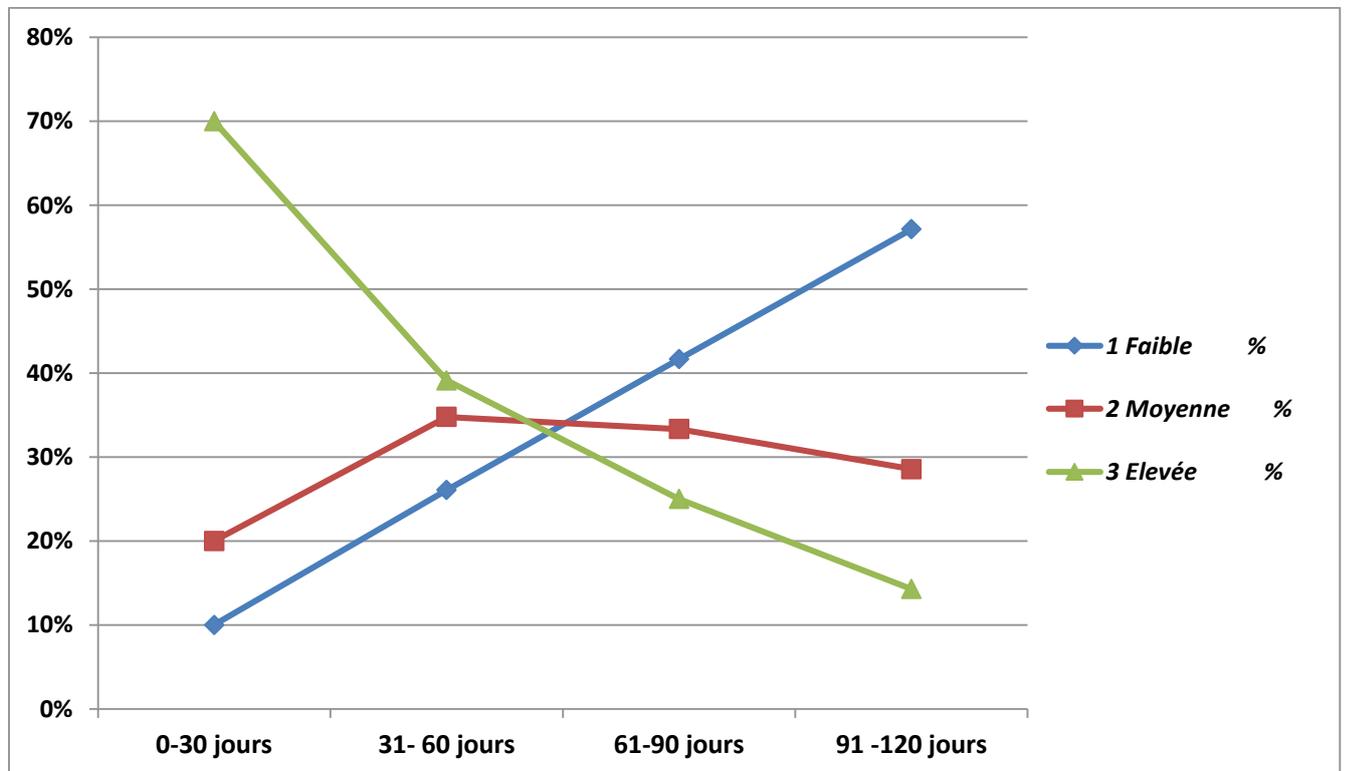
Matrice de corrélation Pearson = -0,436, Intervalle de confiance IC : ]-0,596 ; -0,242[

P-values (Pearson) : < 0,0001

Selon le tableau 5 on constate malgré que l'excrétion parasitaire commence à partir du premier mois d'âge on remarque que 40 prélèvements positifs, soit 42,55% expriment un degré d'infestation élevée (+++) et on observe 28 prélèvements fortement infestées sur les 40 prélèvements positifs soit un pic d'excrétion parasitaire avec un taux de ( 70% ). Avec le

temps et à partir du 2<sup>ème</sup> mois l'infestation et l'excrétion continuer leurs régression et on retrouve des taux de 25,55 % d'échantillon positifs dont 39,13% sont fortement parasitées à l'âge de 31- 60 jours, et de 14,81 % des prélèvements positifs avec 25% infestées à l'âge de 61 - 90 jours et 9,33 % des prélèvements positifs avec 14,28% infestées à l'âge de 91 - 120 jours respectivement. Il est intéressant de souligner l'existence de la très forte influence de l'âge sur le niveau d'excrétion parasitaire (Le coefficient de corrélation = - 0,436 donc  $\alpha = 0,05$  et  $p < 0,0001$  donc la valeur de  $p \leq \alpha$ ) ce qui confirme que la corrélation entre l'âge et le niveau d'excrétion parasitaire est statistiquement significative.

Une corrélation positive est observée entre l'âge et le pourcentage des veaux ayant un degré d'infestation faible (+1) ( $P < 0,0001$ ) à un intervalle de confiance IC :]-0,596 ; -0,242[, qui varie de 10% chez les veaux de moins d'un mois d'âge et atteindre graduellement le taux de 57,14% chez les veaux de 91-120 jours. Par contre une corrélation négative est observée entre l'âge et le pourcentage des veaux ayant un niveau d'excrétion ou degré d'infestation élevée (+++), avec un pourcentage est de 70% chez les veaux de moins d'un mois d'âge puis diminuer progressivement pour atteindre 14,28% chez les veaux de 91-120 jours d'âge .(Figure 8)



**Figure 8 :** Représentation graphique de l'importance du degré d'infestation par *Cryptosporidium spp* en fonction de l'âge des veaux.

## 2-1 En fonction de l'âge et la nature des fèces

Le tableau 6 montre la fréquence d'apparition et le degré d'infestation des cryptosporidies selon le type des matières fécales par rapport à l'âge des veaux. La plus part des prélèvements sont diarrhéiques représentant 56,47% du nombre totale des prélèvements. Les veaux diarrhéiques semblent plus excréteurs des oocystes de *Cryptosporidium spp.* 30,20% par rapport aux veaux non diarrhéiques 16,21 % ( $P < 0,005$ ). La prévalence de la cryptosporidiose varier en fonction de l'état des matières fécales, elle est de l'ordre de 12 à 49, 18 % et 4 à 30,30 % chez les veaux diarrhéiques et non diarrhéiques respectivement.

**Tableau 6 :** Fréquence d'apparition et degré d'infestation des cryptosporidies selon le type des fèces par rapport à l'âge des veaux.

| Type de Matières fécales |     |               |  |             |               |      |               |  |             |             |
|--------------------------|-----|---------------|--|-------------|---------------|------|---------------|--|-------------|-------------|
| MFD                      |     |               |  |             |               | MFND |               |  |             |             |
| Tranche d'âge            | NP  | NPP %         | Degré d'infestation<br>(Nombre et Pourcentage) |             |               | NP   | NPP %         | Degré d'infestation<br>(Nombre et Pourcentage) |             |             |
|                          |     |               | +1   | +2          | +3            |      |               | +1   | +2          | +3          |
| <b>0-30 jours</b>        | 61  | 30<br>49,18 % | 4<br>13,33%                                    | 7<br>23,33% | 19<br>63,33 % | 33   | 10<br>30,30 % | 4<br>40%                                       | 3<br>30%    | 4<br>40%    |
| <b>31-60 jours</b>       | 38  | 14<br>36,84 % | 6<br>42,85%                                    | 5<br>35,71% | 3<br>21,42%   | 52   | 9<br>17,30 %  | 5<br>55,55 %                                   | 2<br>22,2 % | 2<br>22,2 % |
| <b>61-90 jours</b>       | 43  | 8<br>18,60 %  | 5<br>62,50%                                    | 2<br>25%    | 1<br>12,50%   | 38   | 4<br>10,52 %  | 2<br>50%                                       | 1<br>25%    | 1<br>25%    |
| <b>91-120 jours</b>      | 50  | 6<br>12 %     | 5<br>83,33%                                    | 1<br>16,66% | 0<br>/        | 25   | 1<br>4 %      | 1<br>100%                                      | /           | /           |
| <b>Total</b>             | 192 | 58<br>30,20 % |  |             |               | 148  | 24<br>16,21 % |  |             |             |

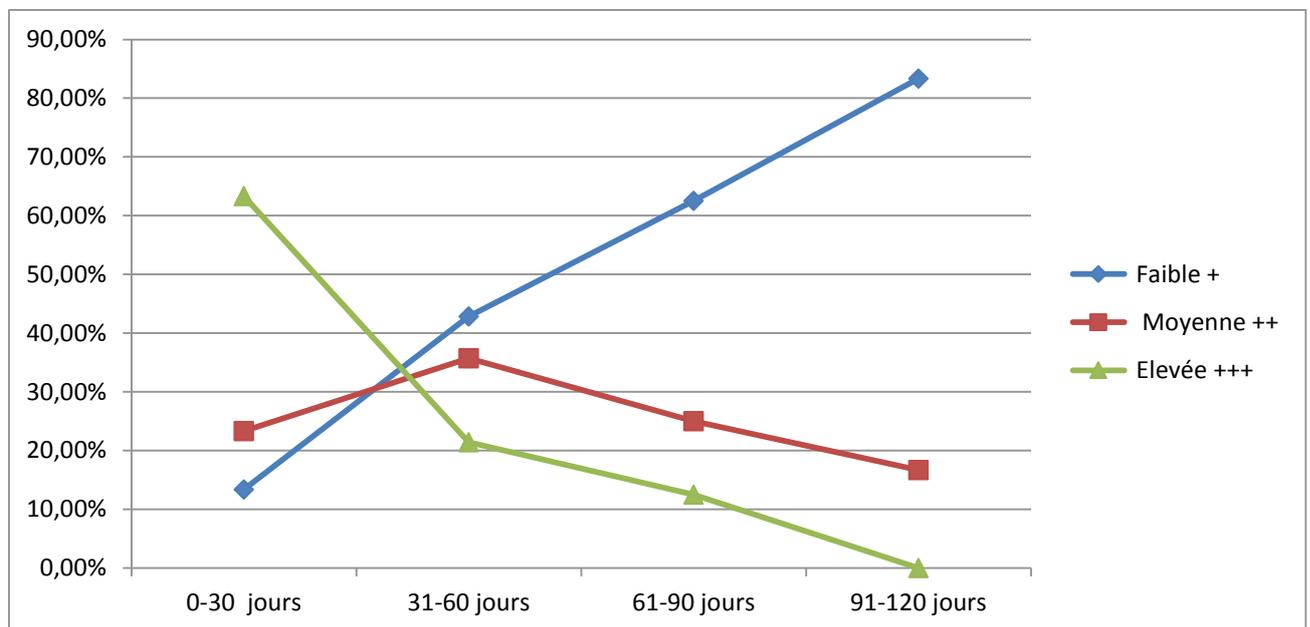
MFD : Matières fécales diarrhéiques. MFND : Matières fécales non diarrhéiques NP : Nombre de prélèvements. NPP : Nombre de prélèvements positifs. % : Pourcentage.

Degré d'infestation : (+1) : Faible, (+2) : Moyenne, (+3) : Forte ou élevée

\*Pour les veaux diarrhéiques : Matrice de corrélation Pearson = -0,561, Intervalle de confiance IC : ]-0,716 ; -0,354[ , P-values (Pearson) : < 0,0001

\*Pour les veaux non diarrhéiques : Matrice de corrélation Pearson = -0,222, Intervalle de confiance IC : ]-0,568 ; 0,189[ , P-values (Pearson) : 0,285.

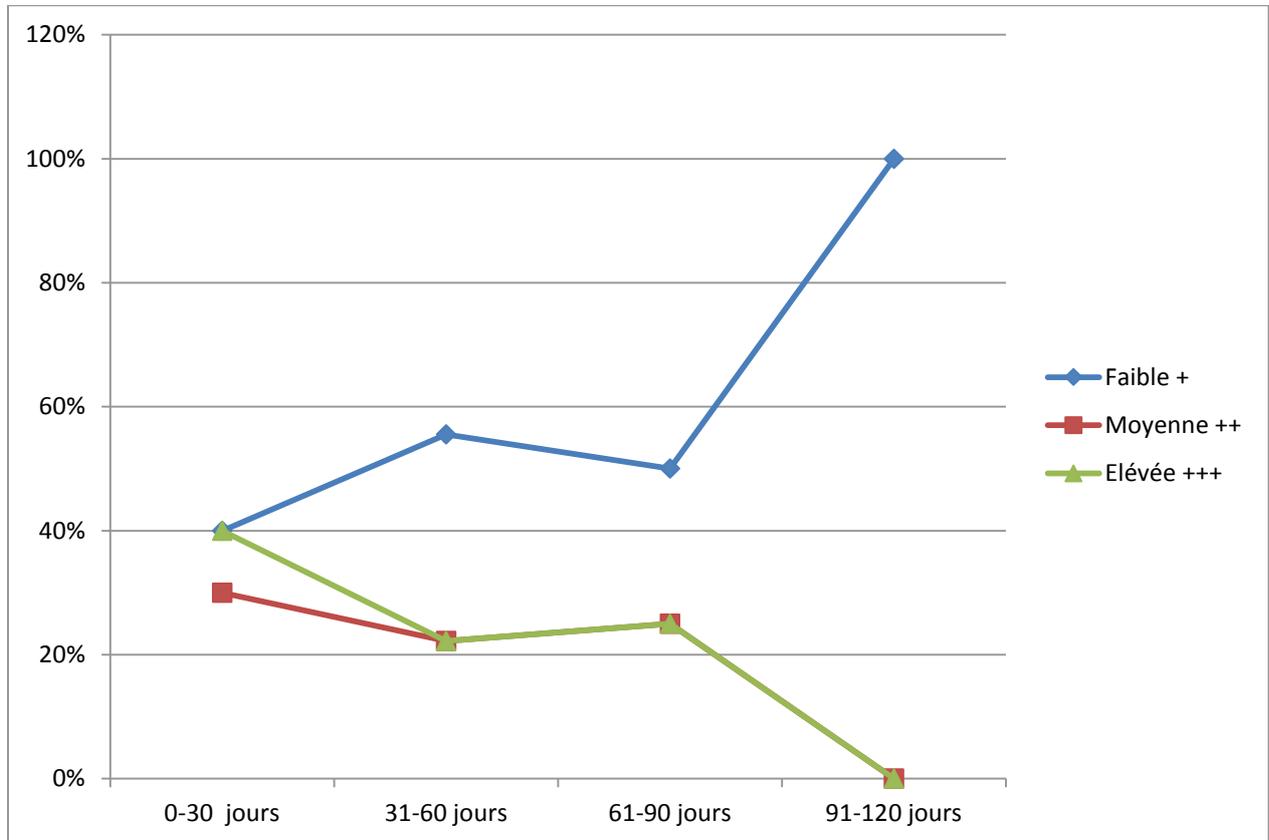
En outre, on note une nette influence de l'âge des veaux sur le degré d'infestation chez les veaux diarrhéiques ( $P < 0,0001$ ). Les veaux diarrhéiques âgés de 0 à 30 jours semblent cependant être les plus préférentiellement touchés et le pourcentage des veaux diarrhéiques excréteurs du parasite à un degré d'infestation faible (+) augmente significativement avec l'âge il est de 13,33% chez les veaux de moins d'un mois pour atteindre 83,33% chez les veaux de 91-120 jours ( corrélation positive  $P < 0,0001$  , Matrice de corrélation = - 0,561  $< \alpha = 0,05$  avec un intervalle de confiance IC : ]-0,716 ; -0,354[ ) . Le niveau d'excrétion parasitaire le plus élevée (+++) chez les veaux diarrhéiques est noté très significativement à l'âge de 0-30 jours avec un taux de 63,33%. Puis il diminue pour atteindre 0% à l'âge de 91-120 jours (corrélation significativement négative) Figure 9.



**Figure 9** : Représentation graphique de corrélation du degré d'infestation par *Cryptosporidium spp* et les matières fécales diarrhéiques en fonction de l'âge des veaux.

Pour les veaux avec des matières fécales non diarrhéiques, et d'après le test de corrélation ( $P = 0,285$ , donc  $p > \alpha = 0,05$  on ne peut pas conclure que la corrélation est différente de 0 ce

qui indique qu'il n'y a aucune relation linéaire entre les deux variables et donc : la corrélation n'est pas statistiquement significative) (Figure 10).



**Figure 10:** Représentation graphique du degré d'infestation par *Cryptosporidium spp* et les matières fécales non diarrhéiques en fonction de l'âge des veaux.

### 3-Etude de la variation de la prévalence de la cryptosporidiose

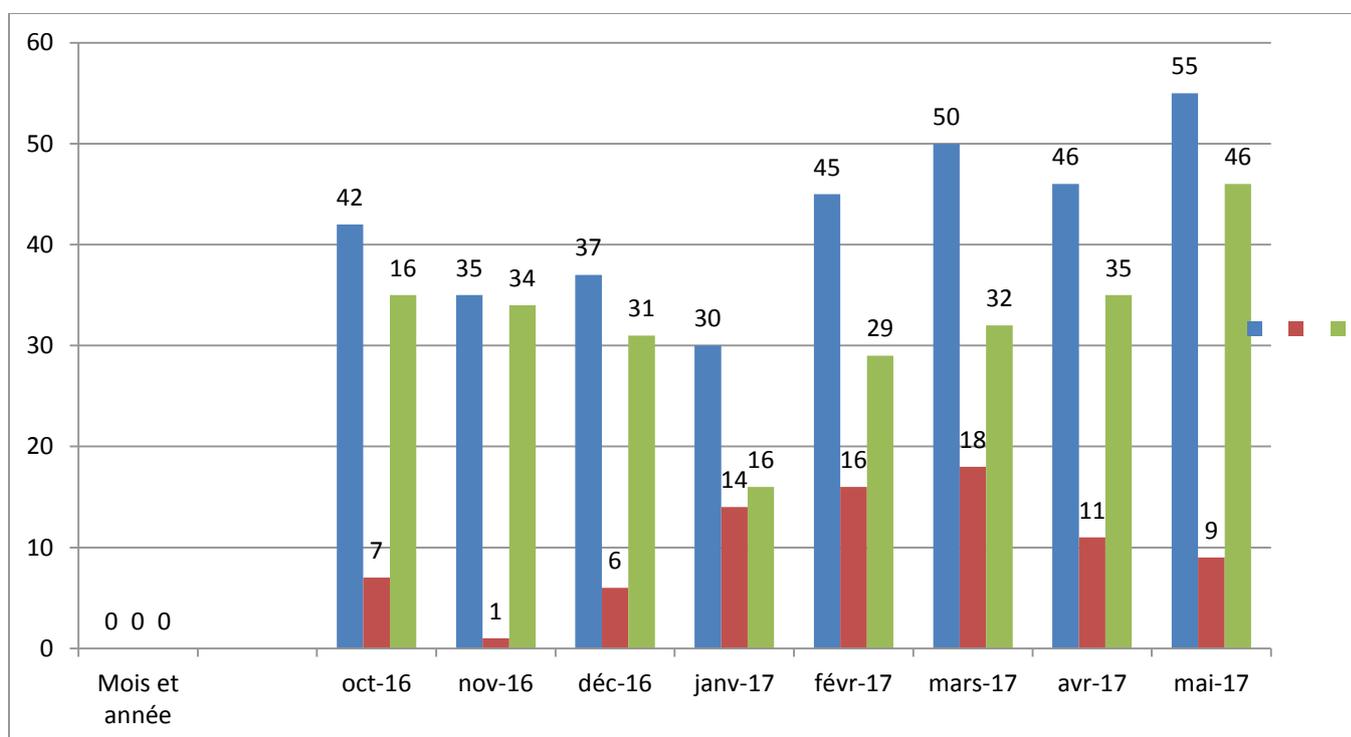
#### 3-1 Variation mensuelle

L'évolution mensuelle de la cryptosporidiose dans l'ensemble des élevages durant la période d'étude a montré une augmentation de la prévalence de la cryptosporidiose en mois de janvier avec 46,66 % suivie de mois de mars et février avec des taux de 36 %, 35,55 % respectivement en comparaison avec les autres mois. La plus faible prévalence a été signalée le mois de novembre avec un taux de 2,85 %. Donc il n'y a pas une association entre l'infection à *Cryptosporidium spp* et les mois (Valeur du test du  $\chi^2 = 28,398$  , P-value = 1,86 donc supérieur à 0,05) . Tableau 7, Figure 11

**Tableau 7 :** Evolution mensuelle de l'incidence des cryptosporidies chez les veaux.

| Mois et année        | Nombre totale des prélèvements par mois | Nombre et pourcentage des prélèvements positifs par mois | Intervalles de Confiance IC |
|----------------------|---|--|-----------------------------|
| <b>Octobre 2016</b>  | 42                                      | 7 16,66%   | [0.0832, 0.3061]            |
| <b>Novembre 2016</b> | 35                                      | 1 2,85%  | [0.0051, 0.1454]            |
| <b>Décembre 2016</b> | 37                                      | 6 16,21%   | [0.0765, 0.3114]            |
| <b>Janvier 2017</b>  | 30                                      | 14 46,66%  | [0.3024, 0.6386]            |
| <b>Février 2017</b>  | 45                                      | 16 35,55%  | [0.2322, 0.5017]            |
| <b>Mars 2017</b>     | 50                                      | 18 36%   | [0.2414, 0.4986]            |
| <b>Avril 2017</b>    | 46                                      | 11 23,91%  | [0.1391, 0.3793]            |
| <b>Mai 2017</b>      | 55                                      | 9 16,36%   | [0.0885, 0.2826]            |
| <b>Total</b>         | 340                                     | 82 24,11 %   |                             |

Valeur du test du  $X^2 = 28,398$  P-value = 1,86



**Figure 10 :** Diagramme représentant les variations mensuelles de la prévalence de la cryptosporidiose pendant la période de l'étude.

La nature épidémiologique évoquée dans cette étude est d'ordre « Etude transversale »

Permettant d'étudier les relations entre la cryptosporidiose et des facteurs de risques hypothétiques chez les veaux de moins de trois mois dans la région Est de la l'Algérie.

#### 4-Etude analytique :

De plus, les associations entre la prévalence de la Cryptosporidiose et ses éventuels facteurs de risque ont été d'abord examinées dans une analyse univariée en utilisant le test du Chi<sup>2</sup> qui consiste à calculer une probabilité entre la variable (facteur de risque) et la variable dépendante (l'infection : la Cryptosporidiose) pour constitue un pré-modèle d'analyse.

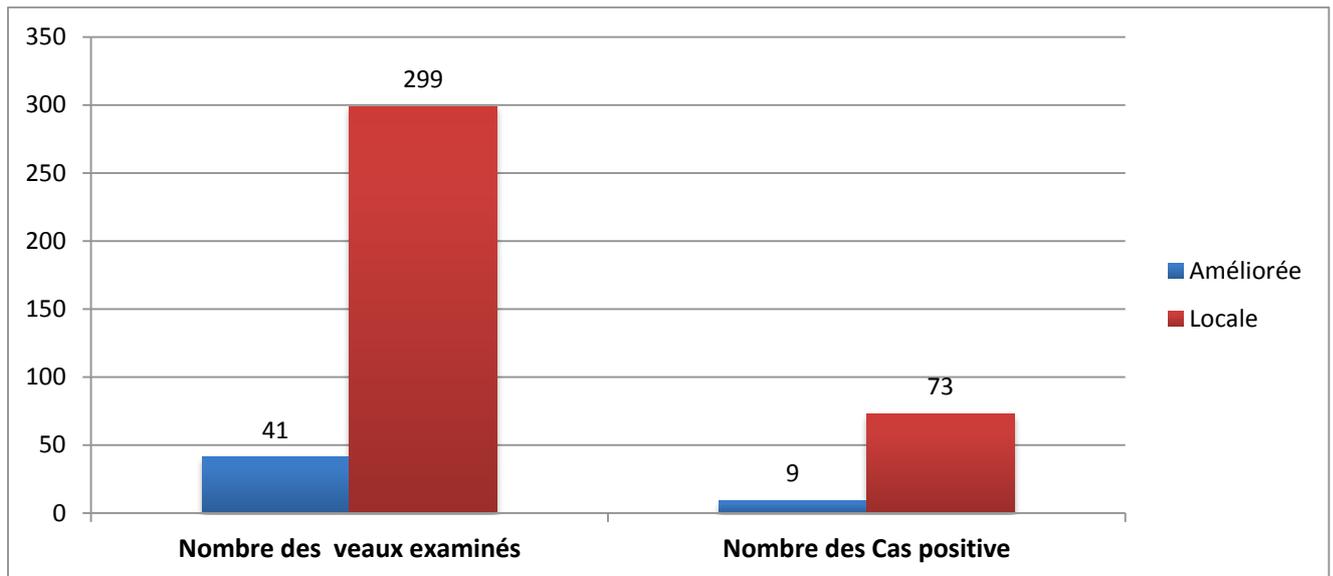
L'objectif du test Chi<sup>2</sup> est de choisir les variables dont les fluctuations sont dues aux erreurs d'échantillonnage et non aux mauvais choix de l'échantillon avec un niveau de signification (choisi par défaut) de 5%.

#### 4-1 Etude des facteurs de risque liées à l'animale :

**4-1-1 La race :** deux races différentes de veaux ont été examinés au cours de la présente étude. Sur les 41 veaux améliorés, 9 (21,95 %) ont été trouvés positifs pour la cryptosporidiose et parmi les 299 veaux de race locale, 93 (24,41 %) ont été trouvés positifs. Basé sur la variation de race il n'y avait pas de différence significative sur la prévalence de la Cryptosporidiose des veaux ( $X^2 = 0,121$ ,  $P > 0,05$ ). Cependant, la prévalence est légèrement plus élevée dans la races locale 24,41 % avec un IC[0.195, 0.290] que le race croisée 21,95 % avec un IC [0.093, 0.346] . **(Tableau 8, 13 et Figure 11)**

**Tableau 8 :** Variation de la prévalence de la cryptosporidiose en fonction de la race des veaux.

| <b>La race</b>   | <b>Nombre des veaux examinés</b> | <b>Nombre des Cas positive</b> | <b>Prévalence %</b> | <b>Intervalle de Confiance IC à 95%</b> |
|------------------|----------------------------------|--------------------------------|---------------------|---|
| <b>Améliorée</b> | 41                               | 9                              | 21,95 %             | [0.093, 0.346]                          |
| <b>Locale</b>    | 299                              | 73                             | 24,41 %             | [0.195, 0.290]                          |
| <b>Total</b>     | 340                              | 82                             | 24,11%              |   |

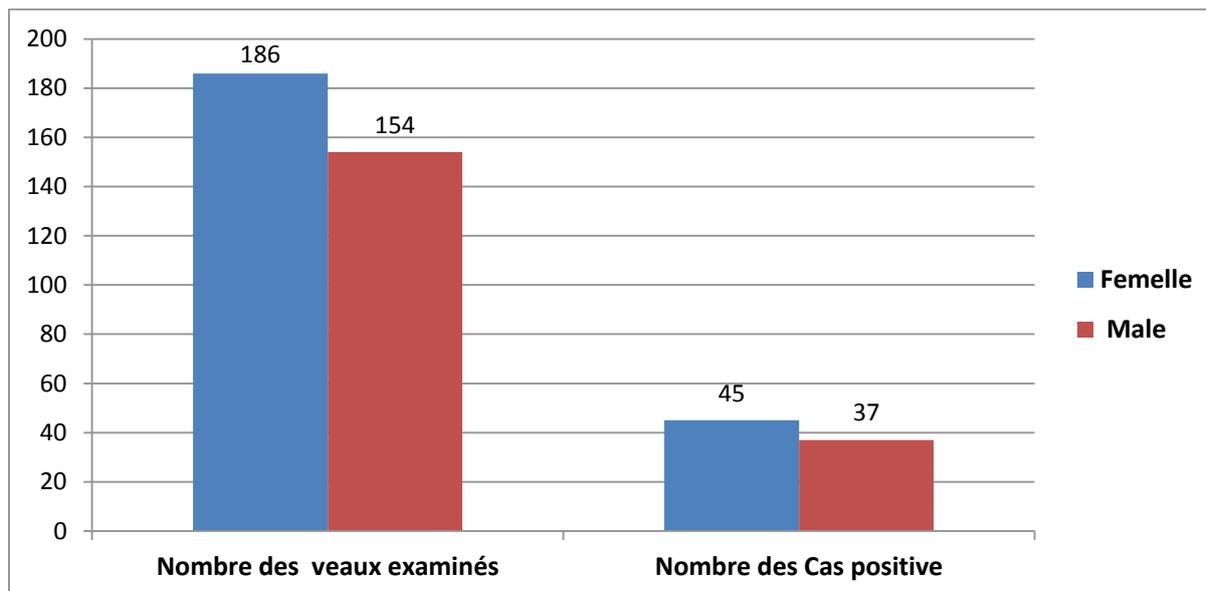


**Figure11 :** Histogramme représentatifs de la variation de la prévalence de la cryptosporidiose en fonction de la race de veau.

**4-1-2 Selon Le sexe :** l'examen microscopique a montré que les veaux des deux sexes étaient infectés par *Cryptosporidium* spp. 24,19 % (45/186) des femelles et 24,02 % (37/154) des veaux mâles ont été infectés. Il n'y a pas de variation significative de la prévalence de l'infection à *Cryptosporidium* spp. et le sexe de l'animal ( $X^2 = 0,406$ ,  $P > 0,05$ ). Cependant, la prévalence de la Cryptosporidiose des veaux est presque identique chez les femelles et les mâles avec (24,19 %, IC [0.180, 0.303] et 24,02 %, [0.173, 0.307]) respectivement. (**Tableau 9,13, Figure 12**).

**Tableau 9 :** Distribution des cas de la cryptosporidiose en fonction du sexe des veaux.

| Sexe    | Nombre des veaux examinés | Nombre des Cas positive | Prévalence % | Intervalle de Confiance à IC à 95% |
|---------|---------------------------|-------------------------|--------------|------------------------------------|
| Femelle | 186                       | 45                      | 24,19 %      | [0.180, 0.303]                     |
| Male    | 154                       | 37                      | 24,02 %      | [0.173, 0.307]                     |



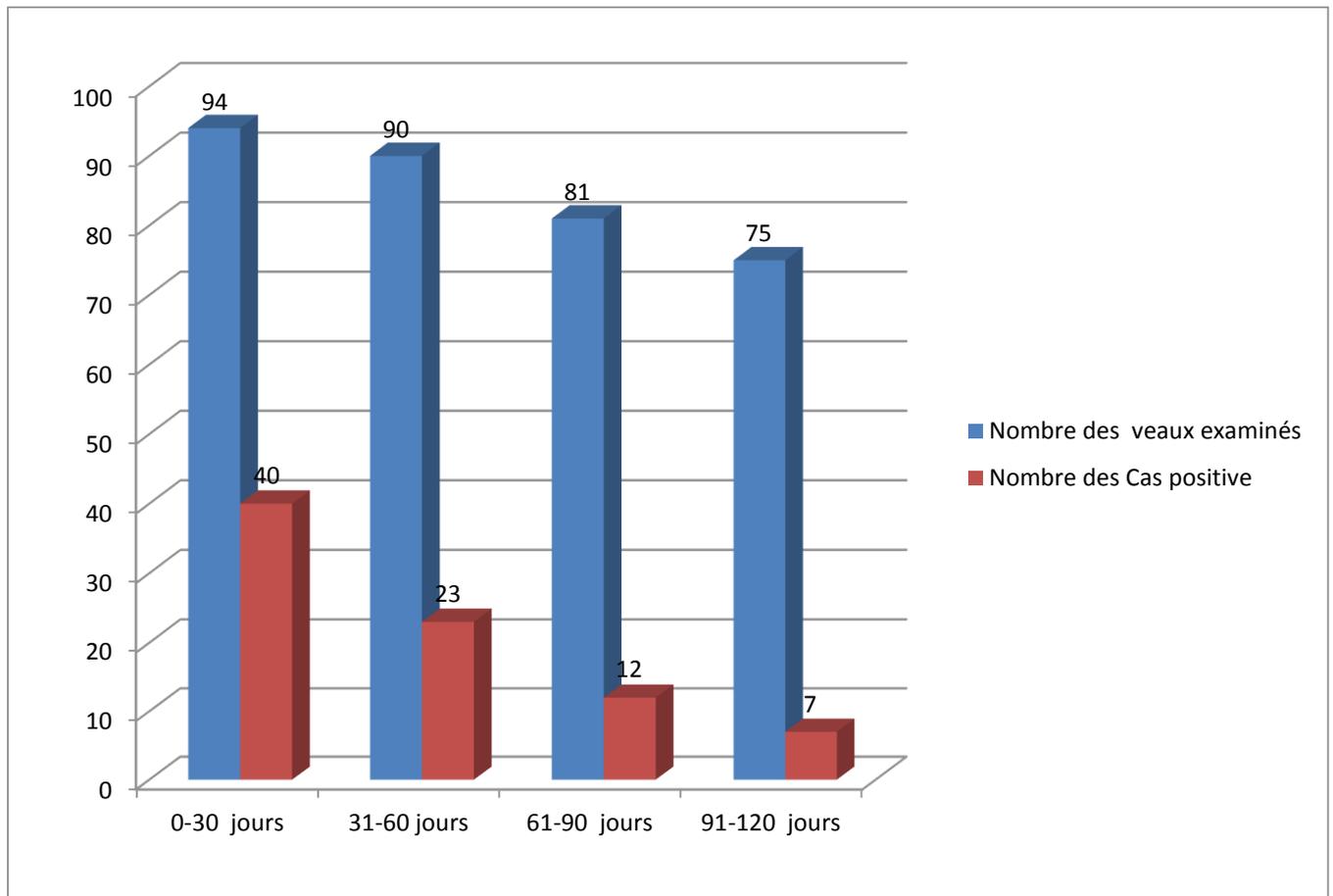
**Figure12 :** Histogramme représentatifs de la distribution des cas de la cryptosporidiose en fonction du sexe de veau.

**4-1-3 En fonction de l'Age :** Les profils de prévalence de la a cryptosporidiose par catégorie d'âge des veaux avec un IC à 95% sont présentées dans le tableau 8. La prévalence en fonction de l'âge a été étudiée dans quatre groupes d'âge différents. Parmi 94 veaux âgés de 0 à 30 jours, 40 (9,25% avec un IC à 95% [0.325, 0.525] ) étaient positifs pour la Cryptosporidiose.

De plus sur 90 veaux sélectionnés dans le groupe d'âge de 31 à 60 jours, 23 (25,55% avec un IC à 95% [0.165, 0.345] ont été trouvés positifs pour *Cryptosporidium spp* . Concernant les 81 et 75 veaux du groupe d'âge de 61- 90 et 91- 120 jours, 12 (14,81% avec un IC à 95% [0.070, 0.225]), 7 (9,33% avec un IC à 95% [0.027, 0.159]) ont été trouvés positifs pour *Cryptosporidium spp* respectivement. La prévalence de la cryptosporidiose selon l'âge des veaux était statistiquement significatif ( $P < 0.05$   $X^2 = 30,346$ ,  $P < 0.00001$ ). Tableau 10 et 13

**Tableau 10 :** Variation de la prévalence d'infection à *Cryptosporidium spp* avec l'âge.

| Tranche d'âge       | Nombre des veaux examinés | Nombre des Cas positive | Prévalence % | Intervalle de Confiance IC à 95% |
|---------------------|---------------------------|-------------------------|--------------|----------------------------------|
| <b>0-30 jours</b>   | 94                        | 40                      | 42,55 %      | [0.325, 0.525]                   |
| <b>31-60 jours</b>  | 90                        | 23                      | 25,55 %      | [0.165, 0.345]                   |
| <b>61-90 jours</b>  | 81                        | 12                      | 14,81 %      | [0.070, 0.225]                   |
| <b>91-120 jours</b> | 75                        | 7                       | 9,33 %       | [0.027, 0.159]                   |

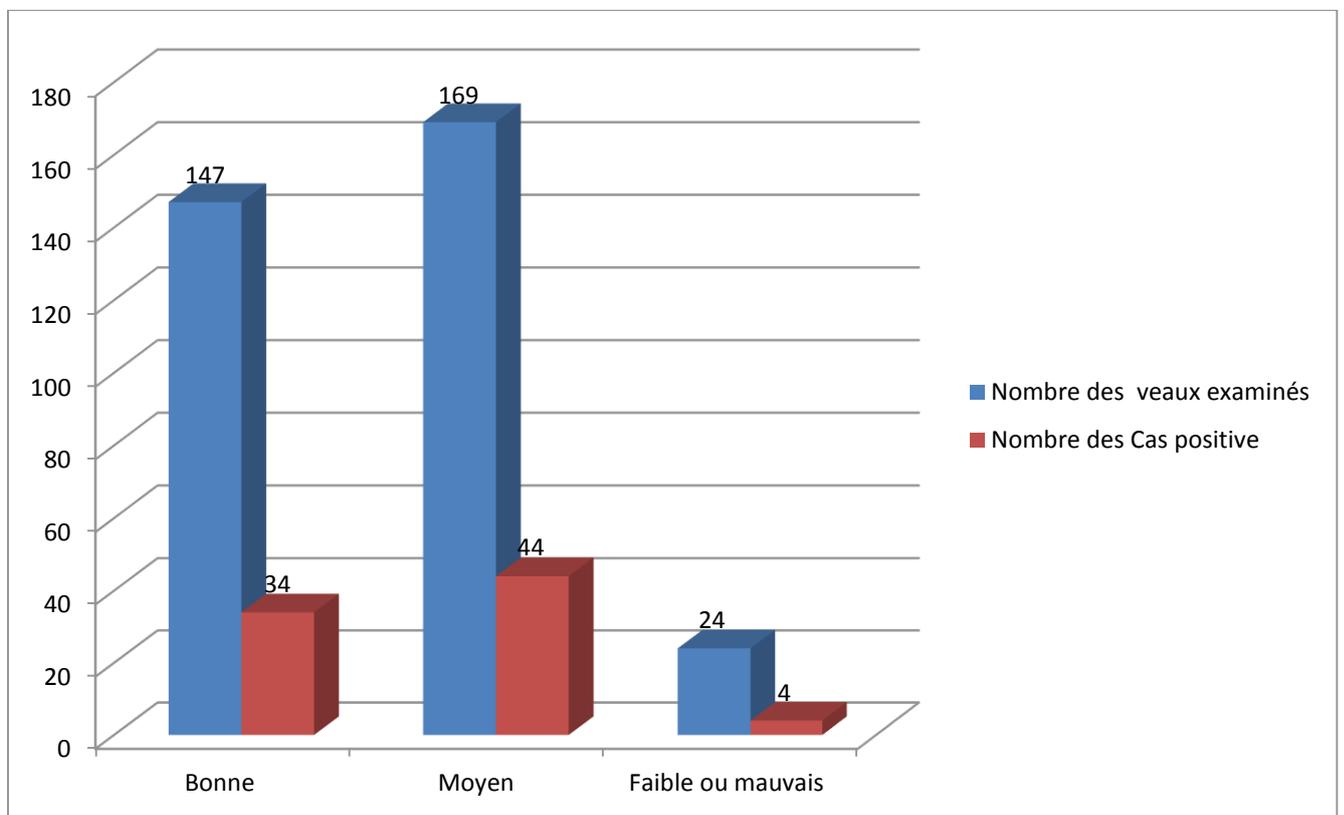


**Figure12 :** Histogramme représentatifs de la prévalence de l'infection à *Cryptosporidium spp.* en fonction de l'âge de veau.

**4-1-4 Les Conditions physique de l'animale :** les résultats obtenues dans les tableaux 11 et 13 montrent que parmi les 340 veaux, 147 ont été regroupés en bon état corporel, 169 veaux dans un état corporel moyen et 24 en mauvaise condition physique. La prévalence de la Cryptosporidiose est élevée chez les veaux en bon état corporel 34 (29, 13 % avec un IC à 95% [0.163, 0.299]) et la prévalence la plus faible a été enregistrée chez les veaux en mauvaise condition physique 4 (16,66 % avec un IC à 95% [0.018, 0.315]). L'analyse statistique de l'état corporel du veau a révélé qu'il n'y a pas de différence significative entre la prévalence de l'infection et l'état corporel des veaux ( $X^2 = 1,146$ ,  $P = 0,564$  donc  $P > 0,05$ ).

**Tableau 11 :** Prévalence de la cryptosporidiose chez les veaux selon leur condition physique

| Condition physique | Nombre des veaux examinés | Nombre des Cas positive | Prévalence % | Intervalle de Confiance IC à 95 % |
|--------------------|---------------------------|-------------------------|--------------|-----------------------------------|
| Bonne              | 147                       | 34                      | 29,93 %      | [0.163, 0.299]                    |
| Moyen              | 169                       | 44                      | 20,11 %      | [0.194, 0.326]                    |
| Faible ou mauvais  | 24                        | 4                       | 16,66 %      | [0.018, 0.315]                    |



**Figure 13 :** Histogramme de variation de la prévalence de la cryptosporidiose en fonction du condition physique de veau.

#### 4-1-: 5 Statut clinique des veaux

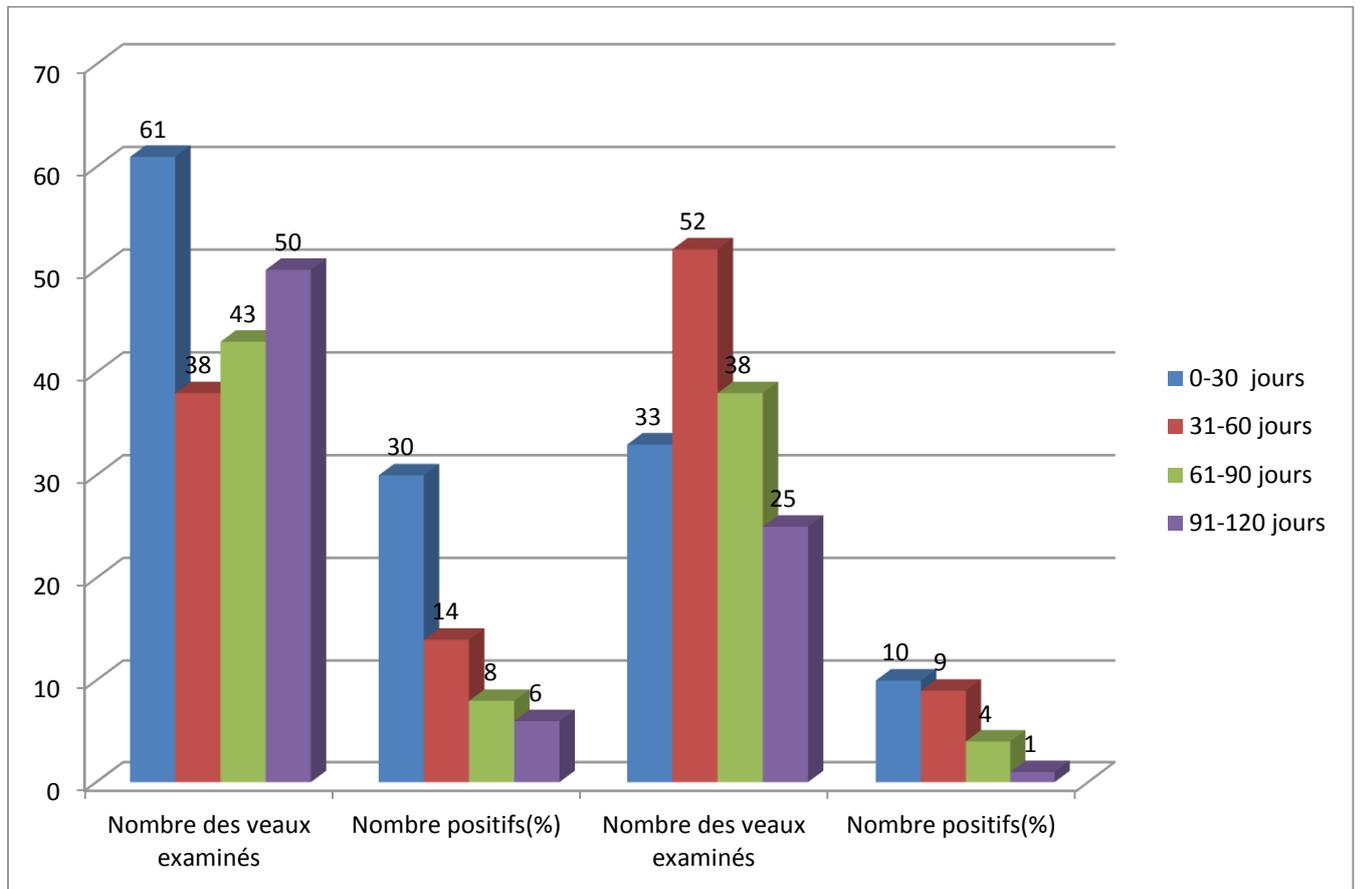
**Tableau 12** : Prévalence de *Cryptosporidium spp* avec le groupe d'âge et le statut diarrhéique des veaux.

|               |                           |                 | Statut des veaux              |                    |                           |                    |
|---------------|---------------------------|-----------------|-------------------------------|--------------------|---------------------------|--------------------|
|               |                           |                 | Diarrhéique                   |                    | Non- Diarrhéique          |                    |
| Tranche d'âge | Nombre des veaux examinés | Nombre positifs | Nombre des veaux examinés     | Nombre positifs(%) | Nombre des veaux examinés | Nombre positifs(%) |
| 0-30 jours    | 94                        | 40              | 61                            | 30 (49,18 %)       | 33                        | 10 (30,30 %)       |
| 31-60 jours   | 90                        | 23              | 38                            | 14 (36,84 %)       | 52                        | 9 (17,30 %)        |
| 61-90 jours   | 81                        | 12              | 43                            | 8 (18,60 %)        | 38                        | 4 (10,52 %)        |
| 91-120 jours  | 75                        | 7               | 50                            | 6 (12 %)           | 25                        | 1 (4 %)            |
|               |                           |                 | 192                           | 58 (30,20 %)       | 148                       | 24 (16,21 %)       |
|               |                           |                 | IC : [0.237, 0.367]           |                    | IC : [0.103, 0.222]       |                    |
|               |                           |                 | $X^2 = 8,941$ P value = 0,003 |                    |                           |                    |

Les résultats mentionnés dans le tableau 10 indiquent que sur 340 veaux, 192 échantillons ont été classés comme matières fécales diarrhéiques et 148 échantillons matières fécales non diarrhéiques. La prévalence la plus élevée a été enregistrée chez les veaux avec des matières fécales diarrhéiques 58 (30,20 % , IC : [0.237, 0.367]) par rapport à celle enregistrée chez les veaux avec des matières fécales non diarrhéiques 24 (16,21 % , IC : [0.103, 0.222] ) . Il y a une différence significative entre la prévalence de l'infection à *Cryptosporidium spp.* et le type des matières fécales (diarrhéiques et non diarrhéiques des veaux ( $X^2= 8,941$ ,  $P = 0,003$  donc  $P < 0,05$ )).

L'analyse univariée des facteurs de risque potentiels des variables liées aux veaux indiquées dans les tableaux 10, 11 et l'infection à *Cryptosporidium spp* a révélé qu'il existait une association significative ( $P < 0,05$ ) entre la cryptosporidiose des veaux et deux variables liées à l'animal : l'âge des veaux ( $P < 0,00001$ ) ou la prévalence atteint son pic chez les veaux âgés de moins d'un mois d'une part et le type des matières fécales diarrhéiques ( $P = 0,003$ )

d'autre part avec une prévalence élevée chez la même tranche d'âge des veaux .(Tableau 12 et 19).Voire aussi figure 14



**Figure 14 :** Histogramme de variation de la prévalence de la cryptosporidiose en fonction de l'âge et le statut diarrhéique de veau.

**Tableau 13:** Analyse univariée et relation entre les facteurs de risque potentiels et la prévalence à *Cryptosporidium spp* avec des intervalles de confiance à 95% en termes de variables liées au veau en utilisant le test  $\chi^2$ .

| Facteur de risque         | Nombre des veaux examinés | Nombre des Cas positive | Prévalence % | IC             | X <sup>2</sup> | P- value |
|---------------------------|---------------------------|-------------------------|--------------|----------------|----------------|----------|
| <b>La race</b>            |                           |                         |              |                |                |          |
| Améliorée                 | 41                        | 9                       | 21,95 %      | [0.093, 0.346] | 0,116          | 0,729    |
| Locale                    | 299                       | 73                      | 24,41 %      | [0.195, 0.290] |                |          |
| <b>Le Sexe</b>            |                           |                         |              |                |                |          |
| Femelle                   | 186                       | 45                      | 24,19 %      | [0.180, 0.303] | 0,001          | 0,971    |
| Male                      | 154                       | 37                      | 24,02 %      | [0.173, 0.307] |                |          |
| <b>Age</b>                |                           |                         |              |                |                |          |
| 0-30 jours                | 94                        | 40                      | 42,55 %      | [0.325, 0.525] | 30,346         | <0.0001  |
| 31-60 jours               | 90                        | 23                      | 25,55 %      | [0.165, 0.345] |                |          |
| 61-90 jours               | 81                        | 12                      | 14,81 %      | [0.070, 0.225] |                |          |
| 91-120 jours              | 75                        | 7                       | 9,33 %       | [0.027, 0.159] |                |          |
| <b>Condition physique</b> |                           |                         |              |                |                |          |
| En bonne santé            | 147                       | 34                      | 29,93 %      | [0.163, 0.299] | 1,146          | 0,564    |
| Moyenne                   | 169                       | 44                      | 20,11 %      | [0.194, 0.326] |                |          |
| Faible                    | 24                        | 4                       | 16,66 %      | [0.018, 0.315] |                |          |

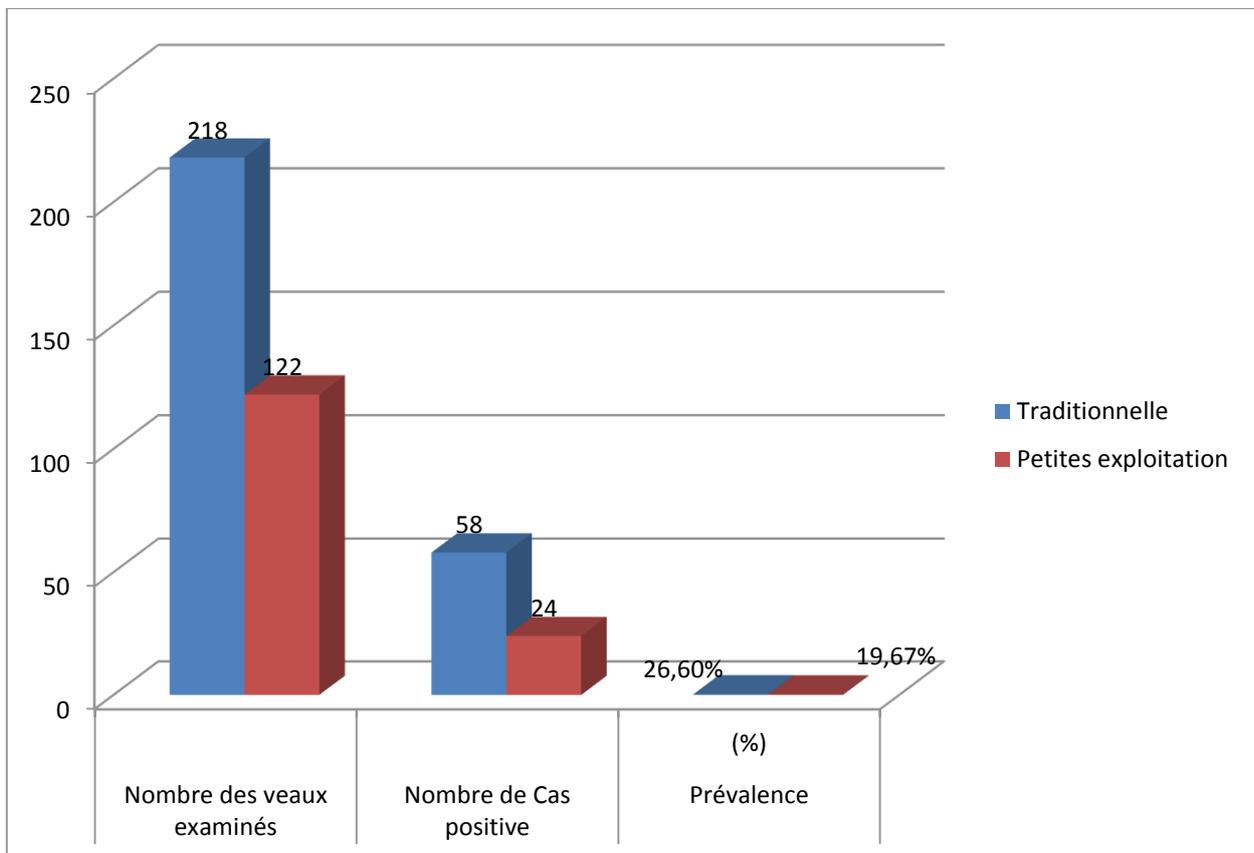
## 4-2 Etude des facteurs de risques liés aux caractéristiques des élevages :

### 4-2-1 Type d'élevage :

Les résultats mentionnés dans le tableau 14 et 18 montrent que la prévalence de l'infection chez les veaux dans les élevages traditionnels était de 26,60% avec un IC : ([0.207, 0.324]) et 19,67% avec un IC : [0.126, 0.267] dans les petites exploitations, sans différence significative ( $P > 0.05$ ,  $X^2 = 2,054$  et  $P = 0,152$ ). Voir aussi figure 15

**Tableau 14 :** Variation de la prévalence de la cryptosporidiose des veaux et le type d'élevage.

| Type d'élevage              | Nombre des veaux examinés | Nombre de Cas positive | Prévalence(%) | Intervalle de Confiance à IC 95% |
|-----------------------------|---------------------------|------------------------|---------------|----------------------------------|
| <b>Traditionnelle</b>       | 218                       | 58                     | 26,60 %       | [0.207, 0.324]                   |
| <b>Petites exploitation</b> | 122                       | 24                     | 19,67 %       | [0.126, 0.267]                   |



**Figure15 :** Histogramme représentatifs de la distribution de la prévalence de l'infection à *Cryptosporidium spp.* chez le veau selon le type d'élevages.

#### 4-2-2 Type de sole des élevages.

Cependant au niveau du troupeau, le type de revêtement de sol dans les élevages, étaient classés comme sol en béton (partiellement cimenté) avec une prévalence élevée 25,83% et un IC à 95 % : [0.217, 0.308] ; et de en terre battue (non cimentée) avec une prévalence de 13,33 % et un IC à 95 % : [0.034, 0.232] (Tableau 14). Il n'y a pas de différence de significative entre la prévalence de la cryptosporidiose de veau et le type de revêtements de sole des élevages ( $X^2 = 3,296$ ,  $P = 0,069$ ). (Tableau 18) (**Figure 12**)

**Tableau 15** : Le taux de prévalence de l'infection à *Cryptosporidium spp* chez les veaux selon le type de sole des élevages.

| Type de sol           | Nombre des veaux examinés | Nombre de Cas positive | Prévalence (%) | Intervalle de Confiance à 95% IC |
|-----------------------|---------------------------|------------------------|----------------|----------------------------------|
| Non cimenté           | 295                       | 76                     | 25,83 %        | [0.217, 0.308]                   |
| Partiellement cimenté | 45                        | 6                      | 13,33 %        | [0.034, 0.232]                   |

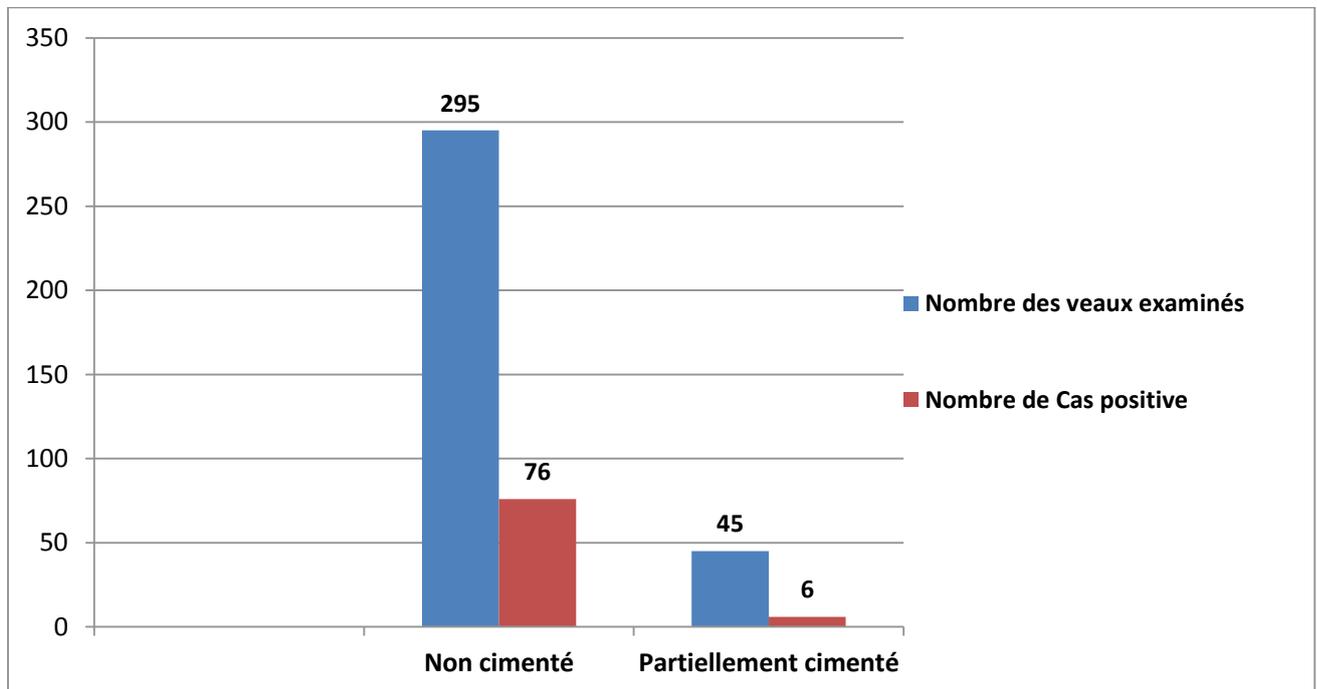


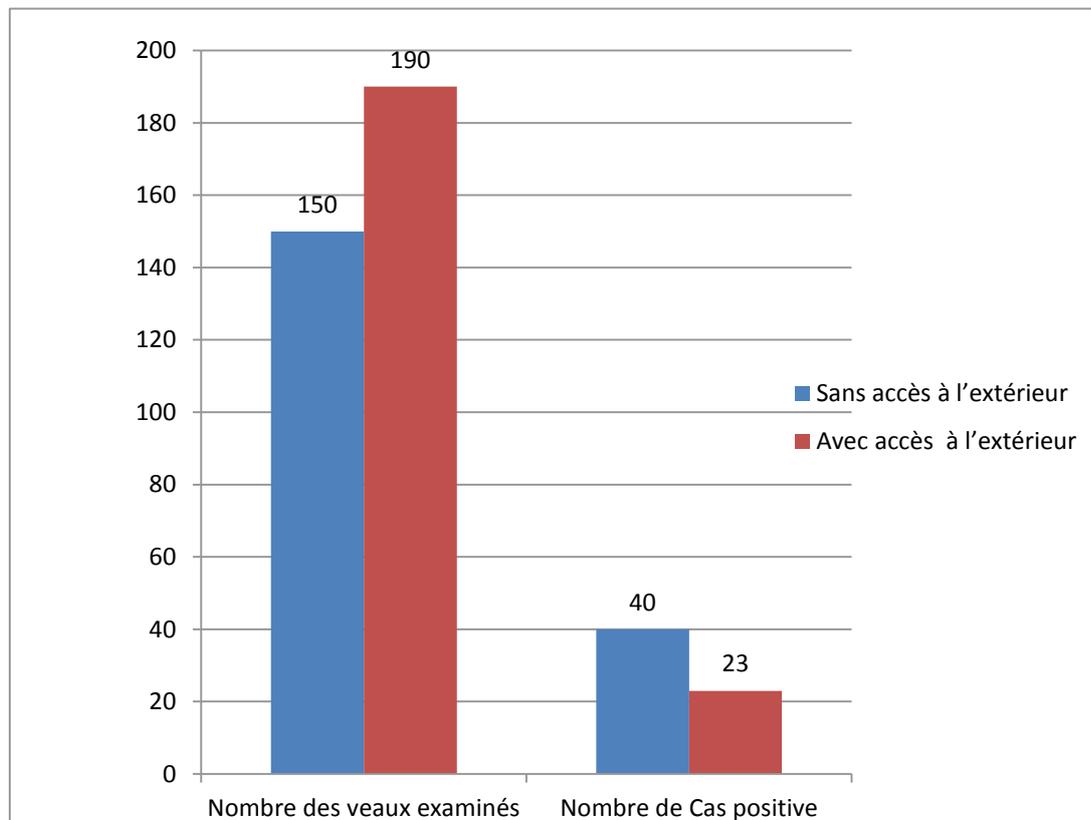
Figure16: Histogramme représentatifs de la distribution de la prévalence de l'infection à *Cryptosporidium spp* chez le veau selon le type de sole des élevages.

#### 4-2-3 Type de la salle d'élevage

Selon les résultats du tableau 16 et 18 on constate une prévalence élevée de l'infection à *Cryptosporidium spp* chez les veaux élevés dans des salles sans accès à l'extérieur (32% avec un IC : [0.196, 0.337]) par rapport à ceux élevés dans des salles avec accès (17,89 % avec un IC : [0.074, 0.167]). Une forte association ( $P < 0,05$ ,  $X^2 = 11,7744$   $P = 0,0006$ ) a été observée entre le type de logement des veaux et la prévalence de l'infection à *Cryptosporidium spp* chez les veaux. Voir aussi Figure 13

**Tableau 16** : Résultats de l'analyse d'étude de la prévalence de la cryptosporidiose des veaux et le type de la salle d'élevage.

| Type de la salle d'élevage | Nombre des veaux examinés | Nombre de Cas positive | Prévalence(%) | Intervalle de Confiance à 95% IC |
|----------------------------|---------------------------|------------------------|---------------|----------------------------------|
| Sans accès à l'extérieur   | 150                       | 40                     | 32 %          | [0.196, 0.337]                   |
| Avec accès à l'extérieur   | 190                       | 23                     | 17,89 %       | [0.074, 0.167]                   |



**Figure17** : Diagramme représentatifs de la prévalence de la cryptosporidiose chez le veau selon le type de salle des élevages.

#### 4-2-4 Conditions hygiéniques des élevages

Sur un total de 340 veaux qui ont été examinés : 17,89 %, 17,33 % et 48,03 % de prévalence ont été obtenus avec des conditions d'hygiènes de l'élevage bon, moyenne et mauvaise conditions, respectivement. En conséquence, les veaux appartenant à des élevages avec des faibles conditions hygiéniques ont montré une plus grande prévalence (48,03 % et IC : [0.383, 0.577]) que celle des veaux appartenant à des élevages avec relativement des meilleures conditions d'hygiènes avec (17,89 %, 17,33% et un IC : [0.0023, 0.136], [0.113, 0.234] respectivement). Tableau 17

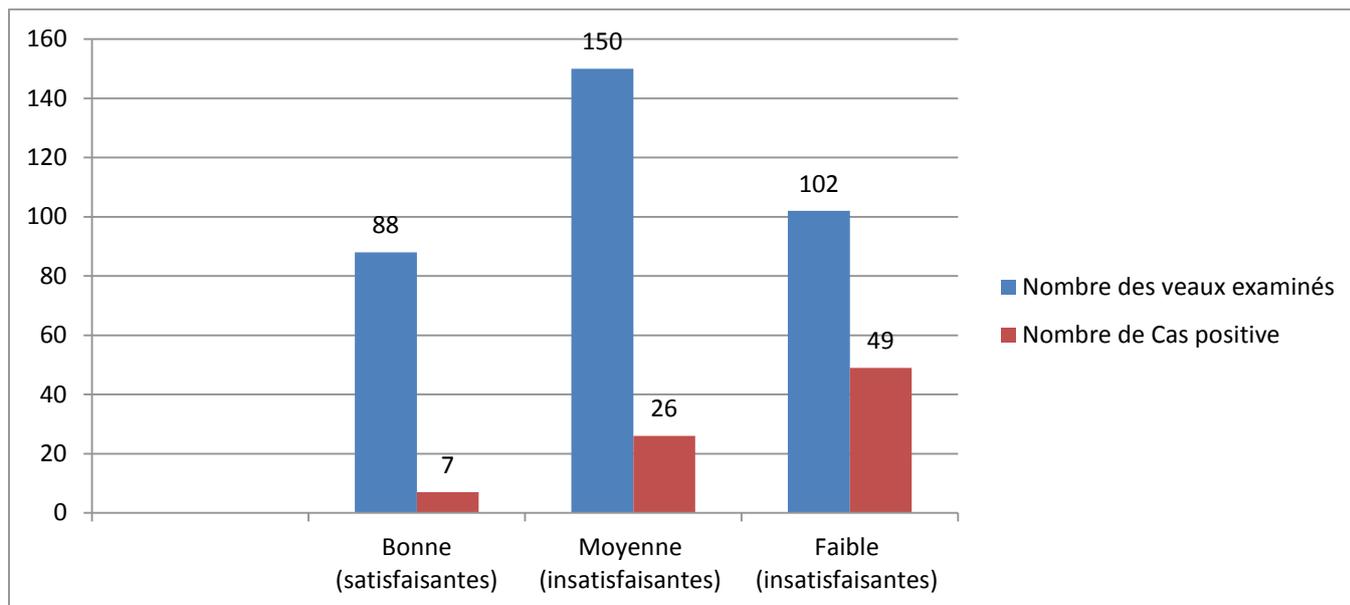
**Tableau 17** : Résultats de l'analyse d'étude de la prévalence de la cryptosporidiose des veaux Selon les conditions hygiéniques des élevages

| <b>Conditions d'hygiènes</b>      | <b>Nombre des veaux examinés</b> | <b>Nombre de Cas positive</b> | <b>Prévalence (%)</b> | <b>Intervalle de Confiance à 95% IC</b> |
|-----------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|-----------------------|---|
| <b>Bonne (satisfaisantes)</b>     | 88                               | 7                             | 17,89 %               | [0.0023, 0.136 ]                        |
| <b>Moyenne (insatisfaisantes)</b> | 150                              | 26                            | 17,33 %               | [0.113 , 0.234 ]                        |
| <b>Faible (insatisfaisantes)</b>  | 102                              | 49                            | 48,03 %               | [0.383 , 0.577 ]                        |

La variation entre la prévalence de la cryptosporidiose de veau et les conditions d'hygiènes au niveau des élevages était statistiquement significative ( $P < 0,05$ ,  $X^2 = 48,228$ ). Tableau 18

**Tableau 18 :** Analyse univariée des facteurs de risque de l'infection à *Cryptosporidium spp* chez les veaux aux termes de variables hypothétiques liée aux élevages

| Facteur de risque                 | Nombre des veaux examinés | Nombre de Cas positive | Prévalence (%) | IC à 95 %       | X <sup>2</sup> | P-value  |
|-----------------------------------|---------------------------|------------------------|----------------|-----------------|----------------|----------|
| <b>Type d'élevage</b>             |                           |                        |                |                 |                |          |
| <b>Traditionnelle</b>             | 218                       | 58                     | 26,60 %        | [0.207, 0.324]  | 2,054          | 0,152    |
| <b>Petites exploitation</b>       | 122                       | 24                     | 19,67 %        | [0.126, 0.267]  |                |          |
| <b>Type de sol</b>                |                           |                        |                |                 |                |          |
| <b>Non cimenté</b>                | 295                       | 76                     | 25,83 %        | [0.217, 0.308]  | 3,296          | 0,069    |
| <b>Partiellement cimenté</b>      | 45                        | 6                      | 13,33 %        | [0.034, 0.232]  |                |          |
| <b>Type de la salle d'élevage</b> |                           |                        |                |                 |                |          |
| <b>Sans accès à l'extérieur</b>   | 150                       | 40                     | 32 %           | [0.196, 0.337]  | 11,7744        | 0,0006   |
| <b>Avec accès à l'extérieur</b>   | 190                       | 23                     | 17,89 %        | [0.074, 0.167]  |                |          |
| <b>Conditions d'hygiène</b>       |                           |                        |                |                 |                |          |
| <b>Bonnes (satisfaisantes)</b>    | 88                        | 7                      | 17,89 %        | [0.0023, 0.136] | 48,228         | <0.00001 |
| <b>Moyennes (insatisfaisante)</b> | 150                       | 26                     | 17,33 %        | [0.113, 0.234]  |                |          |
| <b>Faibles (insatisfaisante)</b>  | 102                       | 49                     | 48,03 %        | [0.383, 0.577]  |                |          |



**Figure18 :** Diagramme représentatifs de la prévalence de cryptosporidiose chez le veau selon les conditions de l'hygiène des élevages.

#### 4- L'analyse univariée des facteurs de risqué liés aux élevages:

IC : intervalle de confiance à 95 %,  $X^2$  : test chi carrée, P- value : valeur de signification

**6- L'analyse de la régression logistique :** a été utilisé pour calculer d'une part **l'Odds Ratios** littéralement dite rapport de cotes : est une mesure d'association entre deux variables, en général un facteur de risque et l'infection. Il permet l'évaluation de contracter une maladie, dans le groupe exposé à ce facteur de risque, par rapport au groupe non exposé. Cette régression logistique a été utilisée pour voir la présence et la force de l'association des facteurs de risque potentiels à l'infection à *Cryptosporidium* spp. Les odds ratios (OR) ont été déterminés à partir des coefficients de la régression logistique (IC : intervalle de confiance à 95 % de l'OR).

D'après les résultats de l'analyse de la régression logistique multivariable mentionnées dans le tableau 17, plusieurs variables étaient associées à l'infection à *Cryptosporidium* spp chez les veaux de moins de 4 mois les unes sont liées à l'animale comme : l'âge ( $P < 0,05$ , OR = 7.196, IC : (2.988,17.329) , le statut de la diarrhée ( $P = 0.003$ , OR = 2.236, IC : (1.310,3.817) ; et les autres sont liées aux caractéristiques des élevages à savoir : le type de la salle d'élevage ( $P < 0,05$ , OR = 2,64 , IC : (1.498,4.653) , et les conditions d'hygiène au niveau des élevages ( $P < 0.001$ , OR = 0.094 , IC : (0.039,0.222) .

**Tableau19 :** L'analyse de la de régression logistique multivariable des différents facteurs de risques probables avec le calcul des OR et IC à 95%.

| <b>Facteur de risque</b>          | <b>Odds Ratios (OR)</b> | <b>IC 95% de l'OR</b> | <b>P-value</b> |
|-----------------------------------|-------------------------|-----------------------|----------------|
| <b>La race</b>                    |                         |                       |                |
| <b>Améliorée</b>                  | 1                       |                       |                |
| <b>Locale</b>                     | 0,871                   | (0.398,1.1.909)       | 0.729          |
| <b>Le sexe</b>                    |                         |                       |                |
| <b>Femelle</b>                    | 1                       |                       |                |
| <b>Male</b>                       | 1,009                   | (0.613,1.663)         | 1              |
| <b>Age</b>                        |                         |                       |                |
| <b>0-30 jours</b>                 | 1                       |                       |                |
| <b>31-60 jours</b>                | 2,157                   | (1.154,4.034)         | 0.015          |
| <b>61-90 jours</b>                | 4,259                   | (2.039,8.899)         | <0.001         |
| <b>91-120 jours</b>               | 7.196                   | (2.988,17.329)        | <0.001         |
| <b>Condition physique</b>         |                         |                       |                |
| <b>En bonne santé</b>             | 1                       |                       |                |
| <b>Moyenne</b>                    | 0,855                   | (0.511,1.430)         | 0.550          |
| <b>Faible</b>                     | 1.504                   | (0.481,4.704)         | 0.480          |
| <b>Type d'élevage</b>             |                         |                       |                |
| <b>Traditionnelle</b>             | 1                       |                       |                |
| <b>Petites exploitation</b>       | 1,48                    | (0.864,2.535)         | 0.152          |
| <b>Type de sol</b>                |                         |                       |                |
| <b>Non cimenté</b>                | 1                       |                       |                |
| <b>Partiellement cimenté</b>      | 2,255                   | (0.918,5.538)         | 0.069          |
| <b>Type de la salle d'élevage</b> |                         |                       |                |
| <b>Sans accès à l'extérieur</b>   | 1                       |                       |                |
| <b>Avec accès à l'extérieur</b>   | 2,64                    | (1.498,4.653)         | 0.0006         |
| <b>Conditions d'hygiènes</b>      |                         |                       |                |
| <b>Bonne</b>                      | 1                       |                       |                |
| <b>Moyenne</b>                    | 0.412                   | (0.171,0.994)         | 0.043          |
| <b>Faible</b>                     | 0.094                   | (0.039,0.222)         | <0.001         |
| <b>Statut clinique des veaux</b>  |                         |                       |                |
| <b>Diarrhéique</b>                | 1                       |                       |                |
| <b>Non Diarrhéique</b>            | 2.236                   | (1.310,3.817)         | 0.003          |

**Remarque :** La ou il y a 1 dans le tableau 17 cela veut dire que nous avons considéré ce groupe comme un groupe de control et on peut faire l'inverse.

Les Odds Ratio des facteurs de risque qui ont une association significative avec la cryptosporidiose des veaux et retenues dont le model finale sont indiqués dans tableau 20.

**7-Modèle finale des facteurs de risque retenue : voir tableau 20**

**Tableau 20** : les OR et leurs IC des facteurs de risque liées à l'infection par *Cryptosporidium spp.* chez les veaux retenues dans le model finale.

| <b>Facteur de risque</b>          | <b>Odds Ratios (OR)</b> | <b>IC 95% de l'OR</b> | <b>P-value</b> |
|-----------------------------------|-------------------------|-----------------------|----------------|
| <b>Age en jours</b>               |                         |                       |                |
| <b>0-30 jours</b>                 | 1                       |                       |                |
| <b>31-60 jours</b>                | 2,157                   | (1.154,4.034)         | 0.015          |
| <b>61-90 jours</b>                | 4,259                   | (2.039,8.899)         | <0.001         |
| <b>91-120 jours</b>               | 7.196                   | (2.988,17.329)        | <0.001         |
| <b>Type de la salle d'élevage</b> |                         |                       |                |
| <b>Sans accès à l'extérieur</b>   | 1                       |                       |                |
| <b>Avec accès à l'extérieur</b>   | 2,64                    | (1.498,4.653)         | 0.0006         |
| <b>Conditions d'hygiènes</b>      |                         |                       |                |
| <b>Bonne</b>                      | 1                       |                       |                |
| <b>Moyenne</b>                    | 0.412                   | (0.171,0.994)         | 0.043          |
| <b>Faible</b>                     | 0.094                   | (0.039,0.222)         | <0.001         |
| <b>Etat diarrhéique des veaux</b> |                         |                       |                |
| <b>Diarrhéique</b>                | 1                       |                       |                |
| <b>Non Diarrhéique</b>            | 2.236                   | (1.310,3.817)         | 0.003          |

## **IX DISCUSSION**

L'étude épidémiologique évoquée dans ce travail est de nature d'observation et de type transversale qui serve à identifier les facteurs de risque et à estimer les effets quantitatifs de différentes causes qui contribuent à l'apparition de l'infection d'une part et la détermination, pour chaque animale, de la présence ou l'absence simultanée de maladie et de facteur de risque hypothétique ; la prévalence est donc enregistré.

Dans cette étude les données montrent clairement que la cryptosporidiose des veaux est endémique et localement répandue et les oocystes de *Cryptosporidium spp.* sont présents chez les veaux dans les trois wilayas de l'Est Algérien concernées par l'étude et presque dans

toutes les élevages, la prévalence globale est de 24,11 %, elle est en compatibilité avec 24,73% rapporté par Ouchen N et al. 2013 dans la région Est (Ouchen N et al. 2013). Ce taux est comparable à ceux obtenues au centre de l'Algérie par Khelef et al. en 2002 avec un taux de 22,62 % et 21, 21 % en 2007 et par Akam et al. 2004 avec une prévalence de 28 ,44% (Akam et al. 2004) mais une moindre prévalence en 2007 avec un taux de 19,23 % chez les veaux de moins d'un an (Akam et al. 2007) en utilisant la technique de ZNMHP pour la mise en évidence des oocystes de *Cryptosporidium spp.* Notre taux de prévalence de l'infection à *Cryptosporidium spp.* chez les veaux est en concordance avec celui obtenue par Joute et al. (Joute et al. 2016) en inde 26,15% et au mexique, une prévalence plus élevée a été rapportée chez les veaux de moins de 4 mois (Cano-Romero et al., 2011; Castelan-Hernández et al., 2011), avec un taux plus élevé d'excrétion d'oocystes entre 15 et 19 jours après la naissance. (Maldonado et al., 1998).

Par ailleurs, le taux signalée dans notre étude est relativement plus élevé que celui enregistrée en Éthiopie, en Égypte, en Malaisie et en Angleterre avec de prévalence de 7,8%, 13,6%, 15,9%, 11,9% et 16,97% (Wegayehu et al. ., 2013; Amer et al., 2013; Nur-Hazirahet al., 2016 ) respectivement . Nos résultats sont inférieurs à ceux rapportés par Gati 1992 au Maroc avec une prévalence un peu plus élevée de 32,78 %, (Muhid et al.20011) et (Santos et al. 20016) avec un taux d'infection de 75% en Malaisie et de 60% au Brésil, respectivement.

Ces différences dans la prévalence de l'infection dans les différents pays peuvent être expliquées par des raisons des variations géographiques, environnementales et agro écologiques, des différences aux niveaux de la gestion des exploitations, des systèmes d'élevage, des systèmes de production et sensibilité des animaux liée à l'âge (Geurden et al, 2006). D'autres facteurs tels qu'une mauvaise nutrition, un assainissement insuffisant dans les élevages et le surpeuplement ont accru le niveau d'infection et l'incidence de la maladie due à une immunosuppression induite par le stress. Certaines études ont montré que les oocystes parasites peuvent survivre longtemps dans les matières fécales et dans l'environnement, et de très faibles doses d'oocystes viables peuvent provoquer une infection. (Chako et al., 2010).

En outre, la sensibilité des méthodes de diagnostic utilisées pourrait également être à l'origine de cette différence. D'autres tests plus sensibles, tels que la PCR, devraient être utilisés (Santín et al., 2009).

D'après la présente étude on constate que le veau est sensible au *Cryptosporidium spp* dès les premiers jours de sa vie, cette sensibilité est due à la déficience immunitaire d'où l'importance de l'ingestion du colostrum a cette étape. A l'âge de 0-30 jours l'excrétion parasitaire est maximale ce qui explique la forte positivité a cette période (2ème et 3ème semaines), ce ci rejoint les rapports de, (Fayer 1986, Angus 1990 et Naciri et al ., 1999), très probablement due a l'apparition des récepteurs de *C. parvum*. Pendant cette même période le veau développe leur immunité ce qui explique à la fois leur très forte excrétion très souvent asymptomatique pendant cette période et sa diminution à partir d'un mois d'âge (Quilez et al., 1996a, Olson et al., 1997). De même les résultats obtenus par, Fayer et al. 2006 ; Roy et al. 2006; Paul et al. 2008 et Singh et al. 2006 dans l'état de Punjab coïncides avec le notre ou une forte prévalence de l'infection à *Cryptosporidium spp* chez les veaux âgés de 0 - 30 jours.

Au delà d'un mois la faible positivité peut avoir un rôle dans l'entretien de l'immunité et de transmission parasitaire qu'un rôle potentiellement pathogène ce qui laisse pensé que la sensibilité est liée principalement à l'immaturation de système immunitaire chez les plus jeunes. Le degré d'infection est liée à l'âge des veaux, en effet les plus hauts degrés d'infestation sont observés jusqu'à l'âge de 3 mois avec un pic dans la tranche d'âge de 0-30 jours de 70% donc il est à noter une corrélation entre l'âge de veau et le degré d'infestation, cette évolution dans l'intensité de l'infestation est en étroite concordance avec d'autres travaux réalisés en Algérie (Kelef et al., 2007, Akam et al ., 2007) et dans le monde (Henriksen et Pohlenz 1981). De même le travail expérimentale de, (Tzipori et al., 1983 et Harp et al., 1996). Le niveau d'excrétion devient faible et les animaux deviennent plus résistant à l'infection, cette résistance est attribuée au développement de l'immunité active due au contact renouvelé des veaux avec le parasite (Harp et al., 1996).

Les oocystes fécaux sont détectés sur 12% à 49,18% chez les veaux diarrhéiques et chez les veaux non diarrhéiques 4% à 30,30%. Ainsi, d'autres auteurs rapportent que les veaux diarrhéiques sont plus excréteurs d'oocystes que les veaux non diarrhéiques ( Khelef et al 2007, Akam et al 2007, Wright et al., 1995, Darabus et al., 2001, Sevinc et al., 2003) .Une corrélation significatif entre le degré d'infestation et les matières fécales diarrhéique en fonction de l'âge des veaux P-values (Pearson) : < 0,0001 , par contre ya pas de corrélation entre les matières fécales non diarrhéiques et l'âge des veaux -values (Pearson) = 0,285.

De plus, les variations saisonnières peuvent également affecter l'incidence de la diarrhée dans le troupeau, l'évolution saisonnière de la cryptosporidiose dans l'ensemble des élevages durant la période d'étude a montré une légère augmentation de l'incidence de la cryptosporidiose en printemps ou en hiver en comparaison avec les autres périodes de l'année.

Cela peut être expliqués par exemple, par la difficulté de maintenir les pâturages et l'environnement propre pendant la saison des pluies que pendant la saison sèche en raison de la complexité de la contamination de l'environnement par des matières fécales, qui encourage une augmentation des infections concomitantes par les micro-organismes et les parasites gastro-intestinaux associées à la diarrhée chez les veaux et les bovins adultes. Par ailleurs notre observation est en discordance avec celle obtenus dans les études antérieures réalisées en Inde par Prasad et al. (1989) et Roy et al. (2006) qui ont observé des taux d'infection le plus élevé durant les mois chauds et humides. Ce peut être dû au fait que la température élevée et l'humidité ainsi que des pluies fréquentes pendant la mousson ont permis la transmission plus rapide des oocystes.

Notre travail révèle qu'il n'y avait pas statistiquement d'association significative ( $P > 0,05$ ) entre la race et l'infection à *Cryptosporidium spp* chez les veaux, ce qui est dû à l'égalité de probabilité des veaux d'être infecté par le *Cryptosporidium spp* ou à l'absence de différence d'immunité protectrice contre la maladie. Ce résultat est en accord avec celui obtenu par Nasir A et al. 2009.

Les veaux mâles et femelles sont également atteints sans association statistiquement significative ( $P > 0,05$ ) (Mâle : 24,02%, femelle : 24,19%), ce qui est en accord avec le rapport de Akam 2007 , de Venu et al. 2013 et : Ayinmode et Fagbemi, 2010; Mallinath et al., 2009 . Cela peut s'expliquer par le même risque d'infestation par des oocystes de *Cryptosporidium spp* et par une immunité protectrice égale.

La cryptosporidiose chez les veaux âgés de moins d'un mois est redoutable (Alain, 2003). Une différence significative ( $p < 0,05$ ) a été observée entre le taux de prévalence de l'infection à *Cryptosporidium spp*. et l'âge de veau et la présence du parasite est relevée pratiquement dans toute les tranches d'âge de veau. Les veaux âgés de 0-30 jours semblent cependant être les plus particulièrement touchés, avec un taux de 42,55 %. Au delà de cette période, le taux d'infection était significativement réduit en fonction de la progression de l'âge, la plus faible

prévalence à été signalée chez les veaux âgés de plus de 90 jours (9,33%). Cela s'explique par le fait que ce faible taux peut avoir plus un rôle d'entretien de l'immunité et de transmission de parasite qu'un rôle potentiellement pathogène ce qui permis à croire que la sensibilité des plus jeunes est liée principalement a l'immaturation de leurs système immunitaire .

Nos résultats sont en étroite collaboration avec d'autres études déjà réalisées où la cryptosporidiose était associée principalement avec l'âge (Paul et al., 2008). De même, une prévalence élevée d'infection à *Cryptosporidium parvum* a été rapportée par Khelef et al (2007) , Akam et al (2004) avec des taux de 32,09% et 30,60% mais aussi par Bhat et al. (2013) et Al-Robaiee (2014) dans des élevages laitier chez veaux âgés de moins d'un mois avec des taux de 79,41% et 71,9%, respectivement. L'apparition de taux d'infection élevés dans cette catégorie d'âge a été attribuée à la faiblesse immunitaire de veaux nouveau-nés (Garroet al., 2016).Ce qui indique que la fourchette d'âge comprise entre 8 et 21 jours présente le risque le plus élevé d'infection et d'excrétion d'oocystes parasites, bien que ce risque diminue avec l'augmentation de l'âge. Notre observation concernant l'âge concorde avec la plupart des études publiées indiquent que la prévalence était significativement plus élevé chez les veaux nouveau-nés et allaités (Lorenzo-Lorenzo et al., 1993; Scott et al., 1994; Quilez et al., 1996; Lefay et al., 2000; Castro-Hermida et al., 2002),

Dans la présente étude, l'état physique n'influence pas la survenue d'une infection à *Cryptosporidium spp.* chez les veaux. Les résultats obtenus dans la présente étude (le taux de prévalence de l'infection est de 29,90 % chez les veaux en bon état physique et 16,60% chez les veaux en faible état physique) .Ceci est dû à une chance égale de contamination par les oocystes. Nasir, A et al (2009) ont trouvés des résultats similaires (le taux de prévalence de l'infection est de 30,93% chez les veaux en bon état physique et 21,42% chez les veaux en faible état physique).

Les veaux des élevages traditionnels présentent une prévalence significativement plus élevée (26.60 %) par rapport aux veaux de petites exploitations (19.67 %). Ceci est en accord avec une étude en Tanzanie, signalant des prévalences de 63,6% et 36,4% respectivement chez les petits exploitants et les élevages traditionnels (Swai et Schoonman, 2010). Ce résultat démontre que la maladie est importante à la fois dans les deux, systèmes d'élevage.

La prévalence plus élevée observée chez les veaux maintenus sur un sol partiellement cimenté est très probablement directement liée au nettoyage du ciment par rapport à d'autres types de revêtements de sol (sable, terre ou gravier) qui ont tendance à s'accumuler l'humidité et les excréments, conjugués à des périodes plus longues entre les nettoyages, permettent aux oocystes de survivre longtemps et aux veaux ou à leur alimentation d'entrer en contact avec ce matériau. Il n'existe pas de différence statistiquement significative ( $P > 0,05$ ) entre les groupes de conditions de plancher, de sorte que notre conclusion n'est pas d'accord avec les autres rapports (Mohammed et al., 1999 ; García-Romo et al., 2014). De la même manière, les gîtes à lattes et les enclos avec une litière de sable ont été signalés comme facteurs de risque (Muhid et al., 2011). Dans les deux cas, la présence de matières fécales rejetées, l'alimentation des veaux sur le sol et un sol non cimenté difficiles à nettoyer telles que constatées dans notre étude, constituait une source de contamination par les oocystes.

La prévalence de l'infection à *Cryptosporidium spp.* chez les veaux élevées dans des salles sans accès à l'extérieur a montré un taux d'infection élevé 32 % par rapport aux veaux ayant accès à l'extérieur 17,89 %. O'Handley (2007) a signalé que *Cryptosporidium parvum* est hautement répandu chez les jeunes veaux dans des salles d'élevage confinés, mais il est rare chez les veaux de pâturage et chez les bovins adultes. Notre observation est corroborée par le rapport d'Alemayehu et al. (2013) et avec des études antérieures qui ont montré l'observation d'une forte association entre le système de logement des veaux et le risque d'infection à *Cryptosporidium* (ELKhodery et Osman, 2008), ou les animaux ont été élevés dans un logement de type fermé avec un sol non cimenté et ont été nourris au sol. Cela pourrait être attribué au fait que la probabilité de l'infection peut augmenter chez les animaux confinés dans une petite zone l'environnement peut être propice à l'infection. Le résultat obtenus coïncide aussi avec le rapport de Starkey et al. (2006), qui ont constaté que la condensation des veaux et leur rapprochement avec des adultes qui peuvent être des porteurs sains du parasite et pourraient être un facteur de risque pour la contamination. Dans les troupeaux bien gérés, les diarrhées dues à *Cryptosporidium parvum* sont également rares.

Concernant les conditions d'hygiène des élevages, les veaux élevés dans des élevages avec des mauvaises ou faibles conditions d'hygiène ont montré une prévalence plus élevée 48,03% à celle des veaux appartenant à des fermes avec des conditions d'hygiène relativement meilleures (moyennes 17,33 % et bonnes 17,89 %). Une différence

statistiquement significative ( $p < 0,05$ ) a été observée dans l'apparition de la cryptosporidiose de veaux et les différentes conditions d'hygiène des fermes. Cela pourrait principalement être due aux mauvaises conditions sanitaires lors du vêlage, de veau et des salles des élevages ainsi que la mauvaise gestion des élevages. D'autre part, la présence et l'accumulation des matières fécales rejetées, la mauvaise ventilation, courants d'air, mauvaise nutrition des veaux, enclos de groupe, des étables confinés, vaches présentes avec des veaux, la litière souillée et non changée, manque de lavage, observées dans notre étude, représentent une source de survie et de contamination par des oocystes.

D'autres études ont également rapportés une association entre l'infection à *Cryptosporidium spp* et la défaillance des conditions d'hygiène (Mohammed et al., 1999; García Romo et al., 2014).

Notre observation selon laquelle la diarrhée représente un risque plus élevé pour l'infection à *Cryptosporidium spp* chez le veau est conforme à celle d'autres auteurs (Lin et al., 2012; Aguirre et al., 2014). Une raison qui peut expliquer que la diarrhée offre une meilleure chance d'excrétion d'oocystes et leur dissémination en comparaison avec le veau non-diarrhéique. Les résultats obtenus par Khelef et al., 2007, Akam et al., 2007, Anderson, 1998; De Graaf et al., 1999, Santín et al., 2004; Joachim et al., 2003; Uga et al., 2003.

Contrairement, d'autres études ont rapportées que l'infection n'est pas associée à la survenue de la diarrhée (Nur-Hazirah et al., 2016, de Snodgrass et al. 1986, Kaminjolo et al. 1993, O'handley et al. 1999 et Bjorkman et al. 2003) qui ont suggérés que *Cryptosporidium parvum* pourrait souvent être identifiées chez des veaux non diarrhéiques.

D'autres résultats suggèrent que la diarrhée peut être le résultat d'autres entéropathogènes habituellement associée à l'infection (Anderson, 1998; De Graaf et al., 1999). Cela signifie que plusieurs facteurs de risque sont impliqués. L'excrétion des oocystes par les veaux asymptomatiques (sans diarrhée) révèle le statut de transporteur et peut servir de réservoir pour transmission aux veaux sensibles.

## CONCLUSION

A la lumière des résultats de cette enquête, la cryptosporidiose de veau semble exister et très répandue dans la région Est de l'Algérie, les cryptosporidies ont été mis en évidence chez les veaux de moins de quatre mois d'âge dans les trois wilayas concernés par l'étude et ce quelque soit le type d'élevage mais avec des degrés qui rejoint dans l'ensemble ce qui est décrit dans la littérature.

La prévalence globale de *Cryptosporidium spp* était de 24,11% avec une sensibilité élevée chez les veaux de moins d'un mois d'âge notamment pour les diarrhéiques 49,18 % , ce qui explique que la cryptosporidiose joue un rôle très important dans l'étiologie des diarrhées néonatale des veaux et doit être prise en considération à coté du Rotavirus , Coronavirus , Escherichia coli K99+ et les Salmonelles.

Le degré d'infestation et le niveau d'excrétion des oocystes est en étroite corrélation avec l'âge du veau et la présence de la diarrhée. L'excrétion des oocystes à un moindre degré par les veaux non diarrhéiques montre leur rôle important comme réservoir asymptomatique et source d'infection pour leur congénères. En outre, il a été observé que l'âge, la présence de la diarrhée, type de sale d'élevage et les conditions d'hygiènes sont les facteurs de risque potentiels avec une influence significative sur la prévalence de l'infection.

Ainsi d'autres enquêtes de plus grande envergure devrait être menées pour à la fois estimer l'incidence et la prévalence réelle de cette parasitose et mieux cernées leurs facteurs de risque potentiels dans notre pays parallèlement avec des enquêtes d'épidémiologie moléculaire qui sont nécessaires pour déterminer l'espèce et le génotype de *Cryptosporidium* chez les veaux en Algérie à fin d'établir une image fidèle sur l'infection dans le pays, ce qui est nécessaire pour élaborer des stratégies de contrôle et limiter la transmission à l'homme.

La vie néonatale constitue une période critique pour le nouveau née ce qui exige une gestion rigoureuse de la période péri-partum. Vue la grande résistance de ce protozoaires dans les milieux extérieur et aux différents désinfectants et l'absence de traitement et prophylaxie délicat, ce qui exige l'application stricte et rigoureuse des règles d'hygiènes qui semble le seul moyen efficace pour lutter contre cette parasitose.

## REFECENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**Achir, I . 2004.** Coprologie parasitaire. Grand Cours . Institut Pasteur d'Alger.Laboratoire de Parasitologie e-t de Mycologie.Pr B. Hamrioui C,H,U Mostapha Bacha.

**Aguirre F., Ruiz M.F., Allassia M., Bagattin L., and Otero J.L., 2014 .** Presence of *Cryptosporidium spp.* in calves from dairy farms in Santa Fe province (Argentina). Revista FAVE - Ciencias Veterinarias , 13 : 1 - 2 . (In Portuguese).

**Akam A. , Khelef D. , Kaidi R., Othmani A., Lafri M., H. Tali-Maamar H. , Rahal K.H.,Tahrat N., Chirila D., Cozma V., Abdhussain M. S., 2004.** Frequency of *Cryptosporidium parvum*, *Escherichia coli* K99 and *Salmonella* spp. isolated from healthy and unhealthy calves in six breeding farms from Mitidja, Algeria (preliminary results) Revista Scientia Parasitologica. 5 : 13 - 21.

**Akam A., Lafri M., Khelef D., Kaidi R., Bouchène Z., Cozma V., E. Şuteu E., 2007.** Cryptosporidiose Bovine dans la région de la Mitidja (Algerie) .Bulletin USAMV-CN, 64/2007 : 1-2.

**Alain V., 2003.** Les zoonoses parasitaires : l'infection chez les animaux et chez l'homme. Montréal, Québec, Canada, Presses de l'université de Montréal, 500 p.

**Alemayehu R., Oda G., Fufa A.,Rahmeto A., Desta B., Bekele M., Etana D., Kassahun A., Eystein S. 2013.** *Cryptosporidium* in Calves, Lambs and Kids at Haramaya, eastern Ethiopia.Ethiop.Vet. J. 17 : 81 - 94.

**Allen A. V. H., Ridley D. S., 1970.** Further observations on the formol-ether concentration technique for faecal parasites. J.Clin.Pathol. 23: 545 – 546.

**Al-Robaiee I., Al-Farwachi M., 2014.** Direct ELISA aided coprological diagnosis of *Cryptosporidiumparvum* infection in diarrheic neonatal calves in Mosul city, Iraq. J. Adv. Vet. Anim. Res. 1 : 8 - 10.

**Amer S., Zidan S., Adamu H., Ye J., Roellig D., Xiao L., Feng Y., 2013.** Prevalence and characterization of *Cryptosporidium* spp. in dairy cattle in Nile River delta provinces, Egypt. Exp. Parasitol. 135 : 518 – 523.

**Anderson, B.C., 1982.** Cryptosporidiosis: a review. Journal of the American Veterinary Medical Association, 180: 1455-1457.

**Anderson B. C., 1998.** Cryptosporidiosis in bovine and human health. *Journal Dairy Sciences.* 81 : 3036 - 3041.

**Angus, K.W.; Tzipori, S.; Gray, E.W., 1982.** Intestinal lesions in SPF lambs associatedwith *Cryptosporidium* from calves with diarrhoea. Veterinary Pathology, 19: 67-68.

**Angus K.W., 1990.** Cryptosporidiosis in ruminants. In : Cryptosporidiosis of man and animals ; J.P. Dubey, C.A. Speer, R. Fayer (Ed.) ; CRC Press, Boca Raton : 83 -103.

**ANONYME,** Coprologie parasitaire. [en ligne]. In : Université Lille 2 Droit et Santé, Site de la faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques Université de Lille 2, Site de cours en ligne. Site disponible sur

[http://pharmacie.univlille2.fr/typo3conf/ext/naw\\_securedl/secure.php?u=0&file=fileadmin/user\\_upload/ressources\\_communes/aides\\_pedagogiques/parasitologie/uvb1/copro-parasitaire-080307.pdf&t=1261977509&hash=6acd8ea0e523af6f658a05bffb00e63c](http://pharmacie.univlille2.fr/typo3conf/ext/naw_securedl/secure.php?u=0&file=fileadmin/user_upload/ressources_communes/aides_pedagogiques/parasitologie/uvb1/copro-parasitaire-080307.pdf&t=1261977509&hash=6acd8ea0e523af6f658a05bffb00e63c).

**Anusz, K.Z.; Mason, P.H.; Riggs, M.W.; Perryman, L.E., 1990.** Detection of *Cryptosporidium parvum* oocysts in bovine feces by monoclonal antibody capture enzymelinked immunosorbent assay. Journal of Clinical Microbiology, 28: 2770-2774.

**Appelbee, A.J., Thompson, R.C.A., Olson, M.E., 2005.** Giardia and Cryptosporidium in mammalian wildlife: current status and future needs. Trends. Parasitol. 21, 370-376.

**Aquino M. C. C., Widmer G., Zucatto S., Viol A. M., Inacio V. S., Nakamura A. A., Coelho D. W., Perri, V. S., Meireles V. M., Bresciani S. D. K., 2015.** First Molecular Characterization of *Cryptosporidium* spp. Infecting Buffalo Calves in Brazil. J.Eukar.Microbio.62 : 657 - 661.

**Arrowood, M.J.; Sterling, C.R., 1989.** Comparison of conventional staining methods and monoclonal antibody-based methods for *Cryptosporidium* oocyst detection. Journal of Clinical Microbiology, 27: 1490-1495.

**Ayinmode A. B., Fagbemi B. O., 2010.** Prevalence of *Cryptosporidium* infection in cattle from South Western Nigeria. Veterinary Archives. 80 : 723 - 731.

**Azzam-Bouchek .Z. 1992.** Premiers Cas De Cryptosporidiose Humaine Rapportées En Algérie. Bulletin De La Société De Pathologie Exotique. Tome 85, N°2, Pp.170.

**Bhat S.A., Juyal P.D., Singh N.K., Singla L.D., 2013.** Coprological investigation on neonatal bovine cryptosporidiosis in Ludhiana, Punjab. J.Parasit. Dis. 37 : 114 – 117.

**Bjorkman C., Svensson C., Christensson B., Deverdier K., 2003 .***Cryptosporidium parvum* and *Giardia intestinalis* in calf diarrhoea in Sweden. *Acta Veterinaria. Scandinavia.* 44 : 145-152.

**Bourée P., 1989 .** Dictionnaire de Parasitologie. (P 126). Ellipses Edition Marketing.

**Broussard, J.D. 2003.** Optimal fecal assessment. Clin. Tech. small Anim. Pract.18, (4), 218–230.

**Budu-Amoako, E., Greenwood, S.J., Dixon, B.R., Barkema, H.W., McClure, J.T., 2012.** Occurrence of *Cryptosporidium* and *Giardia* on beef farms and water sources within the vicinity of the farms on Prince Edward Island, Canada. Vet. Parasitol. 184, 1-9.

**Campbell, A.T.; Robertson, L.J.; Smith, H.V., 1993.** Effects of Preservatives on Viability of *Cryptosporidium parvum* Oocysts. *Applied and Environmental Microbiology*, 59: 4361-4362.

**Campbell, A.T.; Smith, H.V., 1997.** Immunomagnetically separable separation of *Cryptosporidium parvum* oocysts from water samples. *Water Science and Technology*, 35: 397-401.

**Cano-Romero P., Alonso-Díaz M.A., Figueroa-Castillo J.A. and Trigo-Tavera J.F., 2011.** Prevalence and incidence of *Cryptosporidium spp.* in calves from the central region of Veracruz, Mexico. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 13: 567-571.

**Casemore, D.P., Armstrong, M., Jackson, B. 1984.** Screening for cryptosporidium in stools. *Lancet*, 1, (8379), 734-735.

**Casemore, D.P., 1991.** Laboratory methods for diagnosing cryptosporidiosis. *ACP Broadsheet*, 128; 445-451.

**Castelan-Hernández O.O., Romero-Salas D., García-Vázquez Z., Cruz-Vázquez C., Aguilar-Domínguez M., Ibarra-Priego N.D.J. and Muñoz-Melgarejo S., 2011.** Prevalence of bovine cryptosporidiosis in three ecological regions from the central region of Veracruz, México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 13 : 461 -467.

**Castro-Hermida J. A., González-Losada Y. A., Ares- Mazás E., 2002a.** Prevalence of and risk factors involved in the spread of neonatal bovine cryptosporidiosis in Galicia (NW Spain). *Vet.Parasitol.*106 : 1 – 10.

**Castro-Hermida, J.A.; González-Losada, Y.A.; Mezo-Menéndez, M.; Ares-Mazás, E.,2002b.** A study of cryptosporidiosis in a cohort of neonatal calves. *Veterinary Parasitology*, 106: 11-17.

**Castro-Hermida, J.A.; Almeida, A.; González-Warleta, M.; Correia da Costa, J.M.;Rumbo-Lorenzo, C.; Mezo, M., 2007.** Occurrence of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia duodenalis* in healthy adult domestic ruminants. *Parasitology Research*, 101:1443-1448.

**Causapé, A.C.; Quílez, J.; Sánchez-Acedo, C.; del Cacho, E.; López-Bernad, F., 2002.** Prevalence and analysis of potential risk factors for *Cryptosporidium parvum* infection in lambs in Zaragoza (northeastern Spain). *Veterinary Parasitology*, 104: 287-298.

**Cenac.J. ; Delvol . A M . ; Matheron. S. ;Covland.J P. ;Savel. J. ; 1984 .**Cryptosporidiose I. Une nouvelle protozoose intestinale Humaine. *Annales de Biologie Clinique*, 1984, 42, pp. 389-395.

**Chako C.Z., Tyler J.W., Schultz L.G., Chiguma L. and Beerntsen B.T., 2010.** Cryptosporidiosis in people: it's not just about the cows. *J. Vet. Intern. Med.*, 24,1 : 37 – 43.

**Chalmers, R.M., Katzer, F., 2013.** Looking for *Cryptosporidium*: the application of advances in detection and diagnosis. *Trends. Parasitol.* 29, 237-251.

- Chartier, C., 2001 a.** Epidemiologie de la cryptosporidiose. Le Point Vétérinaire, n°212, 2-6.
- Chartier, C., 2001b.** Contrôle de la cryptosporidiose des ruminants. Le Point Vétérinaire, n° 213, 32-35.
- Chartier C.,2003.** Cryptosporidiose des ruminants 1559-1568.In : Principales maladies infectieuses et parasitaire de bétail ; Maladies bacteriennes,mycoses et maladies parasitaires. Le févre Pierre-Charles,Blancou Jean,Chermette René. (1761).Edition médicale internationale.
- Chartier, C., Paraud, C., 2010.** La cryptosporidiose des ruminants. Bulletin des GTV, n° 52 Février 2010.
- Chartier, C., Rieux, A., Delafosse, A., Lehebel, A., Paraud, C., 2013.** Detection of *Cryptosporidium* oocysts in fresh calf faeces: characteristics of two simple tests and evaluation for a semi-quantitative approach. Vet. J. doi: 10.1016/j.tvjl.2013.06.011
- Cho Y. I., Han J. I., Wang C., Cooper V., Schwartz K., Engelken T., 2013.** Case-control study of microbiological etiology associated with calf diarrhea. Vet. Microbiol.166 : 375–385.
- Couto M. C., M.Bomfim T. C. B., 2012.** Espécies de *Cryptosporidium* que infectam bovinos: características etiológicas epidemiológicas. Vet. Not. 18, 94-109.
- Crawford, F.G.; Vermund, S.H., 1988.** Human cryptosporidiosis. Critical Reviews in Microbiology, 16: 113-159.
- Current, W.L., Garcia, L.S., 1991 a.** Cryptosporidiosis. Clin. Lab. Med. 11, 873-897
- Danisova O., Valencakova A., Stanko M., Luptakova L., Hatalova E., Canady A., 2017.** Rodents as a reservoir of infection by multiple zoonotic species/genotypes of *C. parvum*, *C. hominis*, *C. suis*, *C. scrofarum*, and the first evidence of *C. muskrat* genotypes I and II of rodents in Europe. Acta. Trop. 172 : 29 – 35.
- Darabus G.H, Cosoroaba I., Oprescu I., et Morarui S., 2001.** Épidémiologie de la cryptosporidiose chez les animaux dans l'Ouest de la Roumanie. Revue Méd. Vét., 2001, 152, 5 : 399 - 404.
- De Graaf D.C., Vanopdenbosch E. , Ortega-Mora L. M., Abbassi H. , Peeters J.E., 1999.** A review of the importance of cryptosporidiosis in farm animals. *International Journal of Parasitology*. 29 : 1269 - 1287.
- De la Fuente, R.; García, A.; Ruiz-Santa-Quiteria, J.A.; Luzón, M.; Cid, D.; García, S.; Orden, J.A.; Gómez-Bautista, M., 1998.** Proportional morbidity rates of enteropathogens among diarrheic dairy calves in central Spain. Preventive Veterinary Medicine, 36: 145- 152.
- De la Fuente, R.; Luzón, M; Ruiz-Santa-Quiteria, J.A.; García, A.; Cid, D.; Orden, J.A.;García, S.; Sana, R.; Gómez-Bautista, M., 1999.** *Cryptosporidium* and concurrent infections with other major enteropathogens in 1 to 30-day-old diarrheic dairy calves in central Spain. Veterinary Parasitology, 80: 179-185.

- Delafosse, A., Castro-Hermida, J.A., Baudry, C., Ares-Mazás, E., Chartier, C., 2006.** Herd-level risk factors for *Cryptosporidium* infection in dairy-goat kids in western France. *Prev. Vet. Med.* 77, 109-121.
- Duranti, A., Cacciò, S.M., Pozio, E., Di Egidio, A., De Curtis, M., Battisti, A., Scaramozzino, P., 2009.** Risk factors associated with *Cryptosporidium parvum* infection in cattle. *Zoonoses. Public. Health.* 56, 176- 182.
- El-Khodery S.A., Osman. And S.A., 2008.** Cryptosporidiosis in buffalo calves (*Bubalus bubalis*): Prevalence and potential risk factors. *Trop. Anim. Health Pro.* 40 : 419- 426.
- Euzeby .J. 2002 .** La cryptosporidiose humaine .*Bull.Acad.Natle Méd.* 186, N 5,837-850, Séance du 7 Mai 2002.
- Euzéby J., 2003.** Risques parasitaires liées aux déjections d'origine humaine et animale manipulées ou épandues. Le péril fécal et le problème de l'eau. Collection Insitut Romark ,2002.*Bull Soc Path Exot*, 96,1.
- Fayer R., Ungar B.L.P., 1986.** *Cryptosporidium* spp and Cryptosporidiosis. *Microbiological Review*, Dec .1986, P.458-483 Vol.50, No.4.11.
- Fayer, R.; Speer, C.A.; Dubey, J.P., 1997.** The general biology of *Cryptosporidium*. En R. Fayer (ed.); *Cryptosporidium and cryptosporidiosis*. CRC Press; Boca Raton; Florida.P :1- 41.
- Fayer, R.; Gasbarre, L. Pasquali, P. Canals, A. Almeria, S. Zarlenga, D., 1998 b.***Cryptosporidium parvum* infection in bovine neonates: dynamic clinical; parasitic and immunologic patterns. *International Journal for Parasitology*, 28: 49-56.
- Fayer, R.; Morgan, U.; Upton, S.J., 2000a .** Epidemiology of *Cryptosporidium*: transmission; detection and identification. *International Journal for Parasitology*, 30: 1305-1322.
- Fayer, R. 2004.** *Cryptosporidium*: a water-borne zoonotic parasite.*Veterinary Parasitology*, 126 : 37-56.
- Fayer R., Santin M., Trout J.M., Greiner E., 2006 .** Prevalence of species and genotypes of *Cryptosporidium* found in 1–2 year old dairy cattle in Eastern United States. *Vet Parasitol .* 135, 105–112.
- Fayer, R.; Santin, M.; Trout, J.M., 2007.** Prevalence of *Cryptosporidium* species and genotypes in mature dairy cattle on farms in eastern United States compared with younger cattle from the same locations. *Veterinary Parasitology*, 145: 260-266.
- Fayer, R.; Santín, M.; Trout, J.M., 2008.** *Cryptosporidium ryanæ* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in cattle (*Bos taurus*). *Veterinary Parasitology*, 156: 191-198.
- Feng, Y., Ortega, Y., He, G., Das, P., Xu, M., Zhang, X., Fayer, R., Gatei, W., Cama, V., Xiao, L., 2007.** Wide geographic distribution of *Cryptosporidium parvum* and deer like genotype in bovines. *Vet. Parasitol.* 144, 1-9.

**Forget E., Deluol A. M. ; Cenac, J . 1990.** Détection Des Oocystes De *Cryptosporidium* dans les Selles : Valeurs Comparées Des Techniques Utilisant Des Anticorps Monoclonaux .Feuillet De Biologie ; 1990, Vol Xxxi , N°117,Pp 39-44.

**Galvao A. L. B., Ortiz E. G., Ferreira G. S., de Vasconcellos A. L, Vieira M. C., Bresciani K. D. S. 2012.** Importância da criptosporidiose como zoonose. Arch.Vet.Sci. 17, 18-28.

**García, A.; Ruiz-Santa-Quiteria, J.A.; Orden, J.A.; Cid, D.; Sanz, R.; Gómez-Bautista, M.; de la Fuente, R., 2000.** Rotavirus and concurrent infections with other enteropathogens in neonatal diarrheic dairy calves in Spain. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases, 23: 175-183.

**García, L.S.; Bruckner, D.A.; Brewer, T.C.; Shimizu, R.Y., 1983.** Techniques for the recovery and identification of *Cryptosporidium* oocysts from stool specimens. Journal of Clinical Microbiology, 18: 185-190.

**García, L.S.; Brewer, T.C.; Bruckner, D.A., 1987.** Fluorescence detection of *Cryptosporidium* oocysts in human fecal specimens by using monoclonal antibodies. Journal of Clinical Microbiology, 25: 119-121.

**García, L.S., Shimizu, R.Y., 1997.** Evaluation of nine immunoassay kits (enzyme immunoassay and direct fluorescence) for detection of *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum* in human fecal specimens. J. Clin. Microbiol. 35, 1526-1529.

**García, L.S., 2007.** Diagnostic Medical Parasitology. ASM Press, Washington D.C.(EE.UU.).

**García Meniño, I. 2013.** Implicación de *Escherichia coli* y otros enteropatógenos en la diarrea neonatal del ternero. Trabajo de Master Universitario en Investigación en medicina y sanidad veterinaria. Universidad de Santiago de Compostela.

**García-Romo D., Cruz-Vázquez C., Quezada T., Silva- Peña E., Valdivia A. G., Vázquez-Flores S., Parra M. R., 2014.** Prevalence and risk factors associated with infection by *Cryptosporidium* spp. in suckling calves in Aguascalientes, México. Vet México OA. 1, 1-13.

**Garro C. J., Morici G. E., Utgés M. E., Tomazic M. L., Schnittger L., 2016.** Prevalence and risk factors for shedding of *Cryptosporidium* spp. oocysts in dairy calves of Buenos Aires Province, Argentina. Paras.Epid.Control. 1, 36-41.

**Gati A.E., 1992 .** La cryptosporidiose : diagnostic parasitologique, infection naturelle chez onze espèces animales et chez l'homme et étude des effets de l'immunodéficience et de l'immunostimulation expérimentales chez le lapereau. Thèse de doctorat Troisième Cycle, option :Parasitologie.Faculté des sciences de l'université Cadi Ayyad. Marrakeche.

**Geurden T., Gom F. Y., Siwila J., Phiri I. G. K., Mwanza A. M., Gabrie S., Claerebout E., Vercruyse J., 2006a .** Prevalence and genotyping of *Cryptosporidium* in three cattle husbandry systems in Zambia. Vet.Paras. 138 : 217-222.

- Geurden, T., Berkvens, D., Geldhof, P., Vercruyse, J., Claerebout, E., 2006 b.** A Bayesian approach for the evaluation of six diagnostic assays and the estimation of *Cryptosporidium* prevalence in dairy calves. *Vet. Res.* 37, 671-682.
- Geurden, T.; Berkvens, D.; Martens, C.; Casaert, S.; Vercruyse, J.; Claerebout, E., 2007.** Molecular epidemiology with subtype analysis of *Cryptosporidium* in calves in Belgium. *Parasitology*, 134: 1981-1987.
- Geurden, T., Thomas, P., Casaert, S., Vercruyse, J., Claerebout, E., 2008 a.** Prevalence and molecular characterisation of *Cryptosporidium* and *Giardia* in lambs and goat kids in Belgium. *Vet. Parasitol.* 155, 142-145.
- Guarino, A.; Canani, R.B.; Pozio, E.; Terracciano, L.; Albano, F.; Mazzeo, M., 1994.** Enterotoxic effect of stool supernatant of *Cryptosporidium*-infected calves on human jejunum. *Gastroenterology*, 106: 28-34.
- Gulliksen, S.M., Jor, E., Lie, K.I., Hammes, I.S., Løken, T., Akerstedt, J., Osterås, O., 2009.** Enteropathogens and risk factors for diarrhea in Norwegian dairy calves. *J. Dairy. Sci.* 92 : 5057-5066.
- Harp, J.A.; Woodmansee, D.B.; Moon, H.W., 1990.** Resistance of calves to *Cryptosporidium parvum*: effects of age and previous exposure. *Infection and Immunity*, 58: 2237-2240.
- Harp J. A., Fayer. R., Pesch. B. A., Jackson. G. J., 1996 .** Applied Environmental Microbiology, Aug. Volume 62. No 8 : 2866–2868.
- Heine, J., 1982.** Eine einfache nachweismethode fur kryptosporidien. Im Kot. *Zentralbl. Veterinaer. Reiche B.29*, 324-327.
- Heine, J.; Pohlenz, J.F.; Moon, H.W.; Woode, G.N., 1984.** Enteric lesions and diarrhea in gnotobiotic calves monoinfected with *Cryptosporidium* species. *The Journal of infectious diseases*, 150: 768-775.
- Henriksen S. A., Pohlenz J. F., 1981.** Staining of *Cryptosporidia* by modified Ziehl- Neelsen technique. *Acta Vet. Scandin.* 22,: 594-596.
- Hoar, B.R., Atwill, E.R., Elmi, C., Farver, T.B., 2001.** An examination of risk factors associated with beef cattle shedding pathogens of potential zoonotic concern. *Epidemiol. Infect.* 127 : 147-155.
- Howerth, E.W., 1981.** Bovine cryptosporidiosis. *Journal of the South African Veterinary Association*, 52: 251-253.
- Huetink, R.E.; vander Giessen, J.W.; Noordhuizen, J.P.; Ploeger, H.W., 2001.** Epidemiology of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* on a dairy farm. *Veterinary Parasitology*, 102: 53-67.

- Imre, K., Lobo, L.M., Matos, O., Popescu, C., Genchi, C., Dărăbuș, G., 2011.** Molecular characterisation of *Cryptosporidium* isolates from pre-weaned calves in Romania: is there an actual risk of zoonotic infections? *Vet. Parasitol.* 181, 321-324.
- Joachim A., Krull T., Schwarzkopf J. and Dauschies A., 2003.** Prevalence and control of bovine cryptosporidiosis in German dairy herds. *Vet. Parasitol.* 112, 277-288.
- Johnston, S.P., Ballard, M.M., Beach, M.J., Causer, L., Wilkins, P.P., 2003.** Evaluation of three commercial assays for detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* organisms in fecal specimens. *J. Clin. Microbiol.* 41, 623-626. Jothikumar, N., da Silva.
- Joute J. R., Gill, J. P. S., Singh B. B., 2016.** Prevalence and molecular epidemiology of *Cryptosporidium parvum* in dairy calves in Punjab (India). *J. Parasit. Dis.* 40, 745–749.
- Jex, A.R., Smith, H.V., Monis, P.T., Campbell, B.E., Gasser, R.B., 2008.** *Cryptosporidium* biotechnological advances in the detection, diagnosis and analysis of genetic variation. *Biotech. Adv.* 26, 304-317.
- Kaminjolo J. S., Adesiyun A.A., Loregnard R., Kitson-Piggott W., 1993.** Prevalence of *Cryptosporidium* oocysts in livestock in Trinidad and Tobago. *Veterinary Parasitology.* 45 : 209 - 213.
- Kar, S., Gawlowska, S., Dauschies, A., Bangoura, B., 2011.** Quantitative comparison of different purification and detection methods for *Cryptosporidium parvum* oocysts. *Vet. Parasitol.* 177, 366-370.
- KHELEF D., AKAM A., KAIDI R., HUSSEIN M.S.A., ŞUTEU E., COZMA V. (2002)** Evaluation comparative des méthodes de détection de l’oocyste de *Cryptosporidium parvum* dans les selles des veaux. *Sci. Parasitol.* 1, 22–27
- Khelef D., Saib M. Z., Akam A., Kaidi R., Chirila V., Cozma V., Adjou K. T., 2007.** Épidémiologie de la cryptosporidiose chez les bovins en Algérie. *Rev.Méd.Vét.* 158 : 260 - 264.
- Korich, D. G.; Mead, J. R.; Madore, M. S.; Sinclair, N. A.; Sterling, C. R., 1990.** Effects of ozone, chlorine dioxide, chlorine, and monochloramine on *Cryptosporidium parvum* oocyst viability. *Applied and Environmental Microbiology,* 56: 1423-1428.
- Koudela, B., Modry, D., 1998.** New species of *Cryptosporidium* (Apicomplexa, Cryptosporididae) from lizards. *Folia Parasitol* 45, 93-100.
- Kuczynska , E., Shelton, D.R. 1999.** Method for detection and enumeration of *Cryptosporidium parvum* oocysts in feces, manures, and soils. *Appl. Environ. Microbiol.* 65, (7), 2820–2826.
- Ruecker, N.J., Hoffman, R.M., Chalmers, R.M., Neumann, N.F., 2011.** Detection and resolution of *Cryptosporidium* species and species mixtures by genus-specific nested PCR-restriction fragment length polymorphism analysis, direct sequencing, and cloning. *Appl. Environ. Microbiol.* 77, 3998-4007.

- Kváč, M., Kouba, M., Vítovec, J., 2006.** Age-related and housing-dependence of *Cryptosporidium* infection of calves from dairy and beef herds in South Bohemia, Czech Republic. *Vet. Parasitol.* 137, 202-209.
- Kváč, M., Hromadová, N., Květoňová, D., Rost, M., Sak, B., 2011.** Molecular characterization of *Cryptosporidium spp.* in pre-weaned dairy calves in the Czech Republic: absence of *C. ryanae* and management-associated distribution of *C. andersoni*, *C. bovis* and *C. parvum* subtypes. *Vet. Parasitol.* 177, 378-382.
- Langkjaer, R.B.; Vigre, H.; Enemark, H.L.; Maddox-Hyttel, C., 2007.** Molecular and phylogenetic characterization of *Cryptosporidium* and *Giardia* from pigs and cattle in Denmark. *Parasitology*, 134: 339-350.
- Lefay D., Naciri M., Poirier P. and Chermette R. , 2000.** Prevalence of *Cryptosporidium* infection in calves in France. *Veterinary Parasitology.*89 ,1–9.
- Levine N.D. 1984.** Taxonomy and Review Of The Coccidian Genus *Cryptosporidium* (Protozoa, Apicomplexa).*Journal Of Protozoology*, 31 (1).94-98.
- Leconte , M .2013.** Le point sur la cryptosporidiose des Ruminants et les risques zoonotiques. Thèse Méd. Vét., Alfort.
- Lin Q., Ren W., Gao M., Wang X., Cong M., Cheng W., Hu B., Li H., Yu S., Zhao G., 2012.** Prevalence of the intestinal parasite infection in cattle in Shaanxi province, North western China.*African J.Microbiol.Res.* 6, 6252-6256.
- Lorenzo-Lorenzo M. J., Ares-Mazas E., Villacorta-Demartinez I., 1993 .**Detection of oocysts and IgG antibodies to *Cryptosporidium parvum* in asymptomatic adult cattle. *Vet. Parasitol.* 47 : 9-15.
- Mac PHERSON D.W., McQUEEN R. 1993.** Cryptosporidiosis: multiattribute evaluation of six diagnostic methods. *J. Clin. Microbiol.* 31, (2), 198–202.
- Maldonado C.S., Atwill E.R., Saltijeral O.J.A. and Herrera A.L.C. 1998.,** Prevalence of and risk factors for shedding of *Cryptosporidium parvum* in Holstein Freisian dairy calves in Central México. *Preventive Veterinary Medicine* . 36, 29 : 95-107.
- Mallinath R.H. K ., Chikkachowdappa P.G., Gowda A.K.J. and Souza P.E .D., 2009.** Studies on the prevalence of cryptosporidiosis in bovines in organized dairy farms in and around Bangalore, South India. *Veterinarski Arhiv.* 79 : 461-470.
- Martín-Gómez, S.; Ortega-Mora, L.M.; Pilar-Izquierdo, M.; Rojo-Vázquez, F.A.; Pereira-Bueno, J., 1995a.** Prevalencia de la infección por *Cryptosporidium parvum* en terneros en la provincia de León. IV Congreso Ibérico de Parasitología. Santiago de Compostela, pp. 118-119.
- Mc Lauchlin, J.; Casemore, D.P.; Harrison, T.G.; Gerson, P.J.; Samuel, D.; Taylor, A.G., 1987.** Identification of *Cryptosporidium* oocysts by monoclonal antibody. *Lancet* (i); 51.

- Mendonça, C., Almeida, A., Castro, A., Delgado, M.L., Soares, S., Correia da Costa, J.M., Canada, N., 2007.** Molecular characterization of *Cryptosporidium* and *Giardia* isolates from cattle from Portugal. *Vet. Parasitol.* 147, 47–50.
- Misic, Z.; Radivojevic, S.; Katic, K.; Kulisic, Z., 2006.** *Cryptosporidium* infection in lambs and goat kids in Serbia. *Acta Veterinaria*, 56: 49-54.
- Mohammed H. O., Wade S. E., Schaaf S., 1999.** Risk factors associated with *Cryptosporidium parvum* infection in dairy cattle in southeastern New York State. *Vet Paras.* 83 : 1-13.
- Monis, P.T., Giglio, S., Keegan, A.R., Andrew Thompson, R.C., 2005.** Emerging technologies for the detection and genetic characterization of protozoan parasites. *Trends Parasitol.* 21, 340-346.
- Morgan, U.M.; Pallant, L.; Dwyer, B.W.; Forbes, D.A.; Rich, G.; Thompson, R.C.A., 1998.** Comparison of PCR and microscopy for detection of *Cryptosporidium parvum* in human fecal specimens: clinical trial. *Journal of Clinical Microbiology*, 36: 995-998.
- Morgan-Ryan, U.M., Fall, A., Ward, L.A., Hijjawi, N., Sulaiman, I, Fayer, R., Thompson, R.C., Olson, M., Lal, A, Xiao, L., 2002.** *Cryptosporidium hominis* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from *Homo sapiens*. *J. Eukaryot. Microbio.* 49 :433-440.
- Moore, D.A., Atwill, E.R., Kirk, J.H., Brahmabhatt, D., Alonso, L.H., Hou, L., Singer, M.D., Miller, T.D., 2003.** Prophylactic use of decoquinate for infections with *Cryptosporidium parvum* in experimentally challenged neonatal calves. *J of the Am. Vet. Med. Ass.* 223, 839-845.
- Morin, R. 2002.** Lutte contre l'infection a *Cryptosporidium parvum*: application a la cryptosporidiose bovine. Thèse ENV Nantes, N-2002- 148.
- Mtambo, M.M.; Nash, A.S.; Blewett, D.A.; Wright, S., 1992.** Comparison of staining and concentration techniques for detection of *Cryptosporidium* oocysts in cat faecal specimens. *Veterinary Parasitology*, 45: 49-57.
- Muñoz, M., Álvarez, M., Lanza, I., Cármenes, P., 1996.** Role of enteric pathogens in the aetiology of neonatal diarrhoea in lambs and goat kids in Spain. *Epidemiol. Infect.* 117, 203-211.
- Muhid A., Robertson I., Ng J. and Ryan U., 2011.** Prevalence of and management factors contributing to *Cryptosporidium* spp. infection in pre-weaned and post-weaned calves in Johor, Malaysia. *Experimental Parasitology.* 127, 2 : 534-538.
- Murakoshi, F., Xiao, L., Matsubara, R., Sato, R., Kato, Y., Sasaki, T., Fukuda, Y., Tada, C., Nakai, Y., 2012.** Molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. in grazing beef cattle in Japan. *Vet. Parasitol.* 187, 123-128.
- Naciri M., Lefay M.P., Mancassola R., Poirier P and Chermette R., 1999 b.** Role of *Cryptosporidium parvum* as a pathogen in neonatal diarrhoea complex in suckling and dairy calves in France. *Veterinary Parasitology.* 85 : 245-257.

- Naciri M., Lacroix S., Laurent F., 2000.** La cryptosporidiose des ruminants (1ère partie). L'action vétérinaire.
- Nasir A., Avais M., Khan M.S. and Ahmad N., 2009.** Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection in Lahore (Pakistan) and its association with diarrhea in dairy calves. International Journal Agriculture Biology. 11 :221-224.
- Nur-Hazirah H., Najat, H., Sharmeen N. S., Mohd- Hishammfariz M. A., Ridhwan, A. W., Mardhiah, M., Muhammad- Lokman, M. I., Afzan-Mat, Y. 2016.** Identification of *Cryptosporidium* from Dairy Cattle in Pahang, Malaysia. Korean J.Parasitol. 54, 197–200.
- Nydam, D.V.; Wade, S.E.; Schaaf, S.L.; Mohammed, H.O., 2001.** Number of *Cryptosporidium parvum* oocysts or *Giardia* spp cysts shed by dairy calves after natural infection. American Journal of Veterinary Research, 62: 1612-1615.
- O'Donoghue, P.J., 1995.** *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis in man and animals. Int J Parasitol. 25, 139-195.
- O'handley R.M., Cockwill C., Mcallister T.A., Jelinski M., Morck D.W., Olson M.E., 1999 .** Duration of naturally acquired giardiasis and cryptosporidiosis in dairy calves and their association with diarrhea. J. Am. Vet. Med. Assoc. 214 : 391-396.
- O'Handley R.M., 2007.** *Cryptosporidium parvum* infection in cattle: are current perceptions accurate. Trends Parasitol. 23 : 477– 480.
- Olson M.E., Torlakson C.L., Deselliers L., Morck D.W., and Mc Allister T. A., 1997.** *Giardia* and *Cryptosporidium* in Canadian farm animals. Veterinary Parasitology., 68: 375-380.
- Orden, J.A.; Cid, D.; Ruiz-Santa-Quiteria, J.A.; García, S.; Martínez, S.; de la Fuente, R., 2002.** Verotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC); enteropathogenic *E. coli* (EPEC) and necrotoxicogenic *E. coli* (NTEC) isolated from healthy cattle in Spain. Journal of applied microbiology, 93: 29-35.
- Ortega-Mora, L.M.; Troncoso, J.M.; Rojo-Vázquez, F.A.; Gómez-Bautista, M., 1992.** Cross-reactivity of polyclonal serum antibodies generated against *Cryptosporidium parvum* oocysts. Infection and Immunity, 60: 3442-3445.
- Ortega-Mora, L.M.; Gomez-Bautista, M.; Rojo-Vazquez, F.A., 1999.** Criptosporidiosis. En: Cordero del Campillo, M. y Rojo-Vázquez, F.A. (Eds.), Parasitología Veterinaria. McGraw-Hill Interamericana, Madrid (España).
- Ouchen N., Benakhla A., Khelifi N.A., Righi S. , Praud . C., Chartier C., 2012.** Prevalence of *Cryptosporidium spp* in dairy calves in north-eastern Algeria. Revue Méd.Vét., 2012 .163 ,4 : 163-166.
- Pancieri, R.J., W., T.R., 1971.** Cryptosporidial infection in a calf. Vet Pathol 8, 479.

**Paoletti, B.; Giangaspero, A.; Gatti, A.; Iorio, R.; Cembalo, D.; Milillo, P.; Traversa, D., 2009.** Immunoenzymatic analysis and genetic detection of *Cryptosporidium parvum* in lambs from Italy. *Experimental Parasitology*, 122: 349-352.

**Paraud, C., Guyot, K., Chartier, C., 2009.** Prevalence and molecular characterization of *Cryptosporidium* sp. infection in calves, lambs and goat kids reared in a same farm in France. III International Giardia and Cryptosporidium Conference, 11-15 October 2009, Orvieto, Italy.

**Paul S., Chandra D., Ray D. D., Tewari A. K., Rao J. R., Banerjee P. S., Baidya S., Raina O. K. ,2008.** Prevalence and molecular characterization of bovine *Cryptosporidium* isolates in India. *Vet Parasitol.* 153 : 143 - 146.

**Pavlasek, I., 1984.** Effect of disinfectants in infectiousness of oocysts of *Cryptosporidium* spp.. *Ceskoslovenská Epidemiologie, Mikrobiologie, Imunologie*, 33: 97-101.

**Platts-Mills J. A., Babji S., Bodhidatta L., Gratz J., Haque R., Havt A., 2015.** Pathogen-specific burdens of community diarrhoea in developing countries: a multisite birth cohort study (MAL-ED). *Lancet Glob.health.* 3 : 564 – 575.

**Pohlenz, J., Bemrick, W.J., Moon, H.W., Cheville, N.F., 1978.** Bovine cryptosporidiosis: a transmission and scanning electron microscopic study of some stages in the life cycle and of the host-parasite relationship. *Vet Pathol.* 15, 417-427.

**Polack, B., Chermmett, R., Savey, M., Busseiras, J. 1983 .**Les cryptosporidies en France. Techniques usuelles d'identification et résultats préliminaires d'enquêtes épidémiologiques. *Point vét.* 15, (71), 41–46.

**Potters, I.; Van Esbroeck, M., 2010.** Negative Staining Technique of Heine for the Detection of *Cryptosporidium* spp.: A Fast and Simple Screening Technique. *The OpenParasitology Journal*, 4: 1-4 11874-4214/10.

**Prasad K.N., Chattopadhyaya U.K., Sanyal S.C., 1989.** Cryptosporidiosis in calves. *Indian Journal Microbiol.* 29: 139–142.

**Quílez J., Sánchez-Acedo C., Del Cacho E., Clavel A., and Causapé A.C., 1996.** Prevalence of *Cryptosporidium* and *Giardia* infection in cattle in Aragón (Northeastern Spain). *Vet. Parasitol.* , 66: 139-146.

**Quílez, J.; Sanchez-Acedo, C.; Avendaño, C.; del Cacho, E.; Lopez-Bernad, F., 2005.**Efficacy of two peroxygen-based disinfectants for inactivation of *Cryptosporidium parvum* oocysts. *Applied and Environmental Microbiology*, 71: 2479-2483.

**Radostis, O., Gay, C., Blood, D., Hinchcliff, K., 2000.** Cryptosporidiosis, *Veterinary medicine* 9th ed. 1310- 1313.

**Ravary B., Sattler N., 2006.** Septicémie et bactériémie. In: Néonatalogie du veau. Les éditions du Point Vétérinaire, Rueil-Malmaison., 121-134.

**Rebbatichi .T. A.** Place De La Cryptosporidiose En Coprologie Parasitaire Dans Une Population Infantile. Mémoire De Fin D'étude De Résidanat En Biologie Clinique .Promotion. 1998-1999.

**Ripert, C., Guyot, K., 2003.** Cryptosporidiose. In Epidemiologie des maladies parasitaires vol. 3, pp. 269-297. Editions médicales international

**Robert, B.; Ginter, A.; Antoine, H.; Collard, A.; Coppe, P., 1990.** Diagnosis of bovine cryptosporidiosis by an enzyme-linked immunosorbent assay. *Veterinary Parasitology*, 37:1-8.

**Robertson L. J, Huang Q. 2012.** Analysis of cured meat products for cryptosporidium oocysts following possible contamination during an extensive waterborne outbreak of Cryptosporidiosis. *J Food Prot.* 2012 May;75(5):982-988

**Robertson L. J., Björkman C., Axén C., Fayer R., 2014.** Cryptosporidiosis in farmed animals. In *Cryptosporidium: Parasite and Disease*. Springer-Verlag, Wien. 149- 235.

**Rodrigues R.D., Souza L. R., Rafael R., Barbosa F. C., 2016.** Comparison of efficiency of staining with Ziehl-Neelsen modified and Safranin modified in detection of *Cryptosporidium spp.* (Eucoccidiorida, Cryptosporididea) from fecal samples of calves from 0 and 3 months. *Ciênc. Anim. Bras.* 17 :119-125.

**Roy S.S., Sarkar S., Batabyal S., Pramanik A.K., Das P., 2006.** Observations on the epidemiology of bovine cryptosporidiosis in India. *Vet Parasitol* 141:330–333

**Sanford, S.E.; Josephson, G.K., 1982.** Bovine Cryptosporidiosis: Clinical and Pathological Findings in Forty-two Scouring Neonatal Calves. *The Canadian Veterinary Journal*, 23: 343-347.

**Santín M., Trout J.M., Xiao L., Zhou L., Greiner E., Faye R., 2004.** Prevalence and age-related variation of *Cryptosporidium* species and genotypes in dairy calves. *Vet. Parasitol.* 122: 103–117.

**Santín, M., Trout, J.M., Fayer, R., 2008.** A longitudinal study of cryptosporidiosis in dairy cattle from birth to 2 years of age. *Vet. Parasitol.* 155, 15-23.

**Santín M., Zarlenga D. S. A. ,2009.** Multiplex polymerase chain reaction assay to simultaneously distinguish *Cryptosporidium* species of veterinary and public health concern in cattle. *Vet.Parasitol.* 166 :32–37.

**Santín, M., 2013.** Clinical and subclinical infections with *Cryptosporidium* in animals. *New Zealand Veterinary Journal*, 61: 1-10.

**Santos R. K., Oliveira M. R. A., Luz C. S. M., Abrue B. S., Sousa J. S. C., 2016.** Occurrence of protozoan from the genus *Cryptosporidium spp.* in cattle raised in properties of rural zone in the country of Bom Jesus Piauí. *Acta Vet. Bras.* 10 : 346-351.

**Scott C. A., Smith H.V., Gibbs H.A., 1994.** Excretion of *Cryptosporidium parvum* by a herd of beef suckler cows. *Vet. Rec.* 134, 172.

**Sevinc F., Irmak K. and Sevinc M., 2003.** The prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection in the diarrhoeic and non- diarrhoeic calves. *Revue Méd. Vét.* 2003. 154. 5 : 357-361.

**Siddons, C.A.; Chapman, P.A.; Rush, B.A., 1992.** Evaluation of an enzyme immuno assay kit for detecting *Cryptosporidium* in faeces and environmental samples. *Journal of Clinical Pathology*, 45: 479-482.

**Silverlås, C.; de Verdier, K.; Emanuelson, U.; Mattsson, J.G.; Björkman, C., 2010a.** Infection in herds with and without calf diarrhoeal problems. *Parasitology Research*, 107: 1435-1444.

**Silverlås, C., de Verdier, K., Emanuelson, U., Mattsson, J.G., Björkman, C., 2010 b.** *Cryptosporidium* infection in herds with and without calf diarrhoeal problems. *Parasitol. Res.* 107, 1435-1444.

**Singh B.B., Sharma R., Kumar H., Banga H.S., Aulakh R.S., Gill J.P.S., Sharma J.K., 2006.** Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection in Punjab (India) and its association with diarrhoea in neonatal dairy calves. *Vet Parasitol.* 140: 162–165.

**Sischo, W.M., Atwill, E.R., Lanyon, L.E., George, J., 2000.** *Cryptosporidia* on dairy farms and the role these farms may have in contaminating surface water supplies in the northeastern United States. *Prev. Vet. Med.* 43, 253-267.

**Slapeta, J., 2011.** Naming of *Cryptosporidium pestis* is in accordance with the ICZN Code and the name is available for this taxon previously recognized as *C. parvum* 'bovine genotype'. *Vet. Parasitol.* 177 : 1-5.

**Smith, H.V., Caccio, S.M., Cook, N., Nichols, R.A., Tait, A., 2007.** *Cryptosporidium* and *Giardia* as foodborne zoonoses. *Vet Parasitol* 149, 29-40.

**Smith, H., 2008.** Diagnostics. En: En: Fayer, R. and Xiao, L. (Eds.); *Cryptosporidium* and *Cryptosporidiosis*. CRC Press, Boca Ratón, Florida (EE.UU.).

**Smith R. P., Clifton–Hadley F. A., Cheney T., Giles M., 2015.** Prevalence and molecular typing of *Cryptosporidium* in dairy cattle in England and Wales and examination of potential on–farm transmission routes. *Vet. Parasitol.* 204 : 111-119.

**Snodgrass D.R., Terzolo H.R., Sherwood D., Campbell I., Menzies J.D., Syngé B.A., 1986.** A etiology of diarrhoea in young calves. *Vete . Rec.* 119 : 31-34.

**Soba, B., Petrovec, M., Mioc, V., Logar, J., 2006.** Molecular characterisation of *Cryptosporidium* isolates from humans in Slovenia. *Clin. Microbiol. Infect.* 12, 918-921.

- Starkey, S.R., Kimber, K.R., Wade, S.E., Schaaf, S.L., White, M.E., Mohammed, H.O., 2006.** Risk factors associated with *Cryptosporidium* infection on dairy farms in a New York state watershed. *Journal of Dairy Science*. 89: 4229-4236.
- Stibbs, H.H.; Ongerth, J.E., 1986.** Immunofluorescence detection of *Cryptosporidium* oocysts in fecal smears. *Journal of Clinical Microbiology*, 24: 517-521
- Sterling, C.R.; Arrowood, M.J., 1986.** Detection of *Cryptosporidium* sp. infections using a direct immunofluorescent assay. *Pediatric Infectious Disease*, 5: S139-142.
- Sulaiman, I.M., Morgan, U.M., Thompson, R.C, Lal, A.A., Xiao, L., 2000.** Phylogenetic relationships of *Cryptosporidium* parasites based on the 70-kilodalton heat shock protein (HSP70) gene. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 2385-2391.
- Swai E. S., Schoonman L., 2010.** Investigation into the prevalence of *Cryptosporidium* infection in calves among small-holder dairy and traditional herds in Tanzania. *Vet. Med. Int.* 67 : 64-51.
- Sweeny, J.P.; Ryan, U.M.; Robertson, I.D.; Yang, R.; Bell, K.; Jacobson, C., 2011.** Longitudinal investigation of protozoan parasites in meat lamb farms in southern Western Australia. *Preventive Veterinary Medicine*, 101:192-203.
- Torsein M., Lindberg A., Sandgren C. H., Waller K. P., Törnquist M., Svensson C., 2011.** Risk factors for calf mortality in large Swedish dairy herds. *Prev. Vet. Med.* 99 : 136 - 147.
- Tounsi , L. 2001.** Recherche des cryptosporidium dans les diarrhées De CHU de Benni Messousse. Mémoire de Résidanat.
- Trotz-Williams, L.A., Wayne Martin, S., Leslie, K.E., Duffield, T., Nydam, D.V., Peregrine, A.S., 2007.** Calf level risk factors for neonatal diarrhea and shedding of *Cryptosporidium parvum* in Ontario dairy calves. *Prev. Vet. Med.* 82, 12-28.
- Trotz-Williams, L.A., Leslie, K.E., Peregrine, A.S., 2008.** Passive immunity in Ontario dairy calves and investigation of its association with calf management practices. *J. Dairy. Sci.* 91, 3840-3849.
- Tzipori, S.; Campbell, I., 1981.** Prevalence of *Cryptosporidium* antibodies in 10 animalspecies. *Journal of Clinical Microbiology*, 14: 455-456.
- Tzipori S., Smith M., Halpin C., MakinT., Krautil F., 1983.** Intestinal changes associated with rotavirus and enterotoxigenic *Escherichia coli* infection in calves. *Veterinary Microbiology*. Volume 8, Issue 1, February 1983, P : 35- 43.
- Tzipori,S., 1988.** Cryptosporidiosis in perspective. *Advances in Parasitology*, 27: 63-129.

**Tzipori, S.; Ward, H., 2002.** Cryptosporidiosis: biology; pathogenesis and disease. *Microbes and Infection*, 4: 1047-1058.

**Tyzzar, E.E., 1907.** A sporozoan found in the peptic glands of the common mouse. *P.Soc. Exp. Biol. Med.*, 5: 12-13.

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

**Tyzzar, E.E., 1912.** *Cryptosporidium parvum* (sp. nov.), a coccidium found in the small intestine of the common mouse. *Arch Protistenkd* 26.

**Uga S., J. Matsuo J., Kono E., Kimura K., Inoue M., Rai S.K., and Ono K., 2000.** Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection and pattern of oocyst shedding in calves in Japan. *Vet. Parasitol.*, 94 : 27- 32.

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

**Villacorta Martínez de Maturana, M.I., 1989.** Diagnóstico; incidencia y profilaxis de la cryptosporidiosis. Infecciones experimentales. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela. 119 pp.

**Villeneuve A. Les zoonoses parasitaires. Les Presses de l'Université de Montréal. 2003. 499 pp.**

**Vítovec, J.; Koudela, B., 1988.** Location and pathogenicity of *Cryptosporidium parvum* in experimentally infected mice. *Zentralbl Veterinarmed B*, 35:515-524.

**Venu R., Latha B.R., Abdul –Basith S., Sreekumar C., Dhinakar -Raj G., Raman M., 2013.** Factors influencing on prevalence of *Cryptosporidium* infection in south Indian dairy calves .*J . Parasit. Dis.* 37: 168 –172.

**Wang, R.; Wang, H.; Sun, Y.; Zhang, L.; Jian, F.; Qi, M.; Ning, C.; Xiao, L., 2011.** Characteristics of *Cryptosporidium* transmission in preweaned dairy cattle in Henan; China. *Journal of Clinical Microbiology*, 49: 1077-1082.

**Watt, B . 1986.** *Cryptosporidium*- An Important Human Enteric Pathogen. *Microbiological Sciences*, Vol 3, N°. 7 : 203.

**Wegayehu T., Adamu H., Petros B., 2013.** Prevalence of *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* species infections among children and cattle in North Shewa Zone, Ethiopia. *BMC Infect. Dis.* 13: 419 .

**Weir, S. C.; Pokorny, N. J.; Carreno, R. A.; Trevors, J. T.; Lee, H., 2002.** Efficacy of common laboratory disinfectants on the infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocysts in cell culture. *Applied and Environmental Microbiology*, 68: 2576-2579.

**Whitmire, W.M.; Harp, J.A., 1991.** Characterization of bovine cellular and serum antibody responses during infection by *Cryptosporidium parvum*. *Infection and Immunity*, 59: 990-995.

**Williams, R.O.; Burden, D.J., 1987.** Measurement of class specific antibody against cryptosporidium in serum and faeces from experimentally infected calves. *Research in Veterinary Science*, 43: 264-265.

**Wright, A. K., Giger R., Arnold T.M., and E. D. Janzen E.D., 1995.** An episode of diarrhea in calves of a well-managed dairy herd. *Can. Vet. J.* 36 : 36–38.

**Xiao, L., Morgan, U.M., Limor, J., Escalante, A., Arrowood, M., Shulaw, W., Thomson, R.C., Fayer, R., Lal, A.A., 1999.** Genetic diversity within *Cryptosporidium parvum* and related *Cryptosporidium* species. *Appl. Environ. Microbiol.* 65, 3386-3391.

**Xiao, L., Limor, J., Morgan, U.M., Sulaiman, I.M., Thompson, R.C., Lal, A.A., 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., Bern, C., Limor, J., Sulaiman, I., Roberts, J., Checkley, W., Cabrera, L., Gilman, R.H., Lal, A.A., 2001.** Identification of 5 types of *Cryptosporidium* parasites in children in Lima, Peru. *J. Infect. Dis.* 183, 492-7.

**Xiao, L, Fayer, R, Ryan, U, Upton S. J .2004.** . *Cryptosporidium* Taxonomy: Recent Advances and Implications for Public Health. *Clin. Microbiol. Rev.*, 17, 72-97.

**Xiao. L, Fayer. R .2008.** Molecular characterization of species and genotypes of *Cryptosporidium* and *Giardia* and assessment of zoonotic transmission. *Int. J. Parasitol.*, 38, 1239-1255.

**Xiao L., 2010.** Molecular epidemiology of cryptosporidiosis: an update. *Exp. Parasitol.* 2010 ; 124: 80 – 89.

**Zambriski, J.A., Nydam, D.V., Wilcox, Z.J., Bowman, D.D., Mohammed, H.O., Liotta, J.L., 2013.** *Cryptosporidium parvum*: Determination of ID50 and the dose-response relationship in experimentally challenged dairy calves. *Vet. Parasitol.*  
<http://dx.doi.org/10.1016/J.vet.par.2013.04.022>.

## ANNEXES

### ANNEXES 1

### LE QUESTIONNAIRE

#### Information générales :

##### Liées à l'animale

Date de l'enquête :

Non de l'élevage ou de l'éleveur :

Effectifs des élevages : \*Moins de 5 tête

\*Plus de 5 tête

Race : \*Locale

\*Améliorée

\*Autre

Age de veau : \*Inférieur à 1mois

\*Entre 1-2 mois

\*Entre 2-3 mois

\*Entre 3-4 mois

Sexe : \*Male

\*Femelle

Statut clinique des veaux : selon la présence ou non de diarrhées :

\*Veau diarrhéique

\*Veau non diarrhéique

##### Liées à la conduite et condition d'élevage

Type d'élevage : \*Traditionnelle

\*petites exploitation

\*Autre

Vocation initiale de bâtiments d'élevage :

\*Bergerie

\*Hangar

\*Habitation

\*Autre

Aire d'exercice : \*Présence

\*Absence

Type de la salle d'élevage : \*Avec accès à l'extérieur

\* Sans accès à l'extérieur

Nature de sole : \*Terre battue (non cimenté)

\*Béton (partiellement cimenté)

Condition d'hygiène des élevages : selon

\*Nature de la litière : - Paille

-Sciure

-Copeaux de bois

\*Quantité de la litière : - Suffisante

-Insuffisante

\*Nombre de raclage par jours : -1 fois par jours

-Plus d'une fois par jours

\*Etat de propreté de l'élevage : - Propre            -Sale            -Très sale

Les conditions d'hygiènes :

- Bonne            - Moyenne            - Faible

Condition physique : selon :

- La conformation corporelle -La musculature corporelle - La posture

- Conditions physique : - bonne            -moyenne            - mauvaise

## **Annexe 2: Protocole de coloration au saccharose (Anderson)**

### **MATERIEL NECESSAIRE :**

Saccharose

Lame

Lamelle

### **PREPARATION PRELIMINAIRE :**

Solution de saccharose :

Saccharose : 20g

Eau distillée : 10 ml

Agiter le mélange jusqu'à dissolution complète (environ une heure)

### **MODE OPERATOIRE :**

- 1- Déposer une goutte de solution de saccharose sur une lame
- 2- Mélanger avec une goutte de matière fécale
- 3- Recouvrir d'une lamelle
- 4- Observer immédiatement au microscope optique à l'objectif x40

## **Annexe 3 : Protocole de coloration à l'auramine-fuchsine carbolique (Heine) [Casemore et al. (1984)]**

### **MATERIEL NECESSAIRE :**

Auramine

Fuchsine phéniquée

Microscope à fluorescence avec un filtre Leitz KP 540

### **MODE OPERATOIRE :**

- 1- Réaliser un frottis fécal
- 2- Laisser sécher à l'air ambiant
- 3- Plonger le frottis dans l'auramine pendant 5 minutes
- 4- Rincer à l'eau
- 5- Immerger rapidement dans la fuchsine phéniquée (10 secondes environ)
- 6- Rincer à l'eau
- 7- Sécher
- 8- Observation au microscope à fluorescence avec un objectif x10

#### **Annexe 4 : Protocole de coloration au lugol [Bailenger (1982)]**

##### **MATERIEL NECESSAIRE :**

Iode

Iodure de potassium

##### **PREPARATION PRELIMINAIRE : LUGOL :**

Iode (cristallisé) : 1 g

Iodure de potassium : 2 g

Eau distillée : 100 ml qsp

Faire dissoudre l'iodure de potassium dans une très faible quantité d'eau puis ajouter lentement les cristaux d'iode.

Agiter jusqu'à dissolution puis ajouter le reste de l'eau. Pour finir filtrer la solution.

##### **MODE OPERATOIRE :**

- 1- Mettre une goutte de fèces liquide ou réaliser un mélange de fèces dans une goutte de sérum physiologique
- 2- Recouvrir d'une lamelle
- 3- Déposer une goutte de lugol au bord de la lamelle
- 4- Observer au microscope sur la zone de progression du colorant à l'objectif x40

#### **Annexe 5: Protocole de la méthode de coloration de Giemsa**

**[Jokipii, Pohjola et Jokipii (1983)]**

##### **MATERIEL NECESSAIRE :**

Méthanol

Solution de Giemsa à 10%

##### **MODE OPERATOIRE :**

- 1- Réaliser un frottis fécal
- 2- Laisser sécher à l'air pendant 1 heure
- 3- Fixer à l'aide de méthanol pendant 10 minutes
- 4- Plonger le frottis dans la solution de Giemsa à 10% pendant 10 minutes
- 5- Rincer les frottis à l'eau courante

6- Monter la lame

7- Observer au microscope optique à l'objectif x40 et à immersion

**Annexe 6: Protocole de la technique de coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz [Henriksen et Pohlenz (1981), Jokipii et al. (1983)]**

**MATERIEL NECESSAIRE :**

Méthanol à 96°

Fuchsine basique

Phénol à 5%

Ethanol à 95°

Acide sulfurique

Vert de Malachite à 5%

**PREPARATION PRELIMINAIRE :**

Fuchsine carbolique :

Fuchsine basique : 1g

Ethanol : 10 ml

Phénol à 5% : 90ml

**MODE OPERATOIRE :**

1- Réaliser un frottis fécal

2- Laisser sécher à l'air ambiant

3- Plonger le frottis dans du méthanol à 96% pendant 2 à 5 minutes

4- Laisser sécher

5- Fixer brièvement à la flamme

6- Plonger le frottis dans de la fuchsine carbolique pendant 20 à 30 minutes à froid

7- Rincer à l'eau

8- Décolorer à l'aide d'acide sulfurique (de 0,25 à 10%) pendant 20 à 60 secondes

9- Rincer à l'eau

10- Colorer avec la solution de vert de malachite pendant 5 minutes

11- Rincer à l'eau

12- Sécher

13- Monter la lame à l'aide d'Eukitt

14- Observation au microscope optique à l'objectif x40 ou à immersion

## **Annexe 7 : Protocole de la technique de Ziehl-Neelsen modifiée par Angus**

### **MATERIEL NECESSAIRE :**

Fuchsine phéniquée

Ethanol à 95°

Acide chlorhydrique

Vert de Malachite à 0,25%

### **PREPARATION PRELIMINAIRE :**

Mélange HCl-éthanol :

Acide chlorhydrique : 3ml

Ethanol à 95° : 100ml

### **MODE OPERATOIRE :**

1- Réaliser un frottis fécal

2- Laisser sécher à l'air ambiant

3- Fixer le frottis à l'éthanol

4- Laisser sécher

5- Plonger le frottis dans de la fuchsine carbolique pendant 5 minutes à froid

6- Rincer à l'eau

7- Décolorer dans le mélange HCl-éthanol jusqu'à ce que le colorant s'élimine

8- Rincer à l'eau

9- Colorer avec la solution de vert de malachite à 0,25% pendant 30 secondes

10- Rincer à l'eau

11- Sécher

12- Monter sous lamelle

13- Observation au microscope optique à l'objectif x40 ou à immersion.