

République Algérienne Démocratique et Populaire
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
Ministère De L'enseignement Supérieure et de La Recherche Scientifique
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire-Alger
المدرسة الوطنية العليا للبيطرة الجزائر

Mémoire pour l'obtention du diplôme
de magistère en sciences vétérinaires
Option : Gestion Des Maladies Infectieuses Animales

Thème

**La cryptosporidiose chez le veau et sa relation
avec certains facteurs de risques dans quelques
élevages des trois wilayas du centre de l'Algérie**

Présenté par Abdelaziz Abdelhafid

Soutenu le : 13 / 03/2014

Le jury :

- Président : Pr Hamdi .T.M (Professeur)
- Promoteur : Pr Oumouna. M (Professeur)
- Co-promoteur : Pr Khelef. D (Professeur)
- Examineur : Dr Ait oudhia. KH (M C A)
- Examineur : Dr Ghalmi F (M C A)

Année universitaire : 2013/ 2014

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail :

À la mémoire de mon père : Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation. À ma mère : Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours

Pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

À ma chère femme : Quand je t'ai connu, j'ai trouvé la femme de ma vie, mon âme soeur et la lumière de mon chemin. Ma vie à tes côtés est remplie de belles surprises, mon inspiratrice depuis toujours,

Je ne remercierai jamais assez pour m'avoir tendu chaleureusement ses bras, pour avoir évincé mes moments de doute

Tes sacrifices, ton précieux soutien moral et matériel, ta gentillesse sans égal, ton profond attachement m'ont permis de réussir mes études. Sans ton aide, tes conseils et tes encouragements ce travail n'aurait vu le jour.

Que dieu réunisse nos chemins pour un long commun serein et que ce travail soit témoignage de ma reconnaissance et de mon amour sincère et fidèle.

A mon beau père et ma belle mère

Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite. Que ce travail soit un témoignage de ma gratitude et mon profond respect.

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui m'a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.

En second lieu, je tiens à remercier mon encadreur Mr : le Pr Oumouna M pour avoir accepté d'encadrer ce travail.

Je tiens également à remercier Mr : le Pr Khelef D pour son précieux conseil et son aide durant toute la période du travail.

Mon vif remerciement va également à Mr : le Pr Hamdi T M pour avoir accepté la présidence du jury, et pour ces précieux conseils.

Mes remerciements s'étendent également à Melle : le Dr Ait Oudhia KH, et Melle : le Dr Ghalemi F, pour l'intérêt qu'elles ont portée à ma recherche en acceptant d'examiner mon travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Enfin je tiens également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail, en particulier le Dr Izri Z pour son aide apportée lors des prélèvements, et Mr Saadi A pour sa contribution au niveau du laboratoire de parasitologie

Résumé

Dans le but de déterminer l'interaction entre l'excrétion des oocytes de *Cryptosporidium* et certains facteurs de risque incriminés dans la propagation de la cryptosporidiose dans les élevages bovins, 223 prélèvements de selles de veaux âgés entre 1j et 90j issus de 5 grands élevages réparties sur trois régions du centre, Alger, Tipaza, Blida ont été analysés, afin de déterminer le taux d'excrétion des oocytes de *Cryptosporidium* en utilisant la technique de concentration de Ritchie simplifiée par Allen et Ridley, suivie d'une observation au microscope optique, après une coloration au Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz. Les résultats font apparaître une prévalence globale de 37,66%. L'âge apparaît comme le facteur influençant le plus important, l'excrétion commence dès le 7j, passe par un pic entre 22 et 39 j, ce qui démontre l'importance du portage sain dans la propagation de l'infestation du veau, puis déclin par la suite avant de s'éliminer à 80 j. la prise colostrale selon les normes conventionnelles permet de protéger le veau contre la sévérité de l'infection, la vaccination des vaches gestantes, contre les agents viraux et bactériens de la diarrhée ne semble pas jouer un rôle dans le taux d'excrétion des oocytes, par contre, le renouvellement fréquent de la litière, la désinfection et la séparation des veaux d'âge différent, semble jouer un rôle plus ou moins important dans la variation de l'excrétion.

Mots-clés : cryptosporidiose – veau- oocystes- facteurs de risques.

Abstract

In order to determine the interaction between the excretion of cryptosporidium oocysts and risk factors implicated in the spread of cryptosporidiosis in cattle farms , 223 stool samples from calves between 1d and 90d from 5 big farms spread over three regions in central, Algiers, Tipaza, Blida were analyzed to determine the rate of excretion of cryptosporidium oocysts using the concentration technique simplified by Ritchie Allen and Ridley , followed by observation under an optical microscope after staining with Ziehl- Neelsen modified by Henriksen and Pohlenz . The results appear an overall prevalence of 37.66%. Age appears to be the most important factor influencing the excretion begins the 7day, through a peak between 22 day and 39 day, which demonstrates the importance of healthy carriers in the spread of the infestation level calf, then decline by following before removing an 80-day. The colostrum taken by conventional standards to protect the calf against the severity of the infection. Vaccination of pregnant cattle against viral and bacterial agents of diarrhea did not appear to play a role in the excretion rate of oocysts , on the other side, frequent renewal of the litter, disinfection and separation of differing age calves seem played a more or less important in the variation of excretion.

Keywords: Cryptosporidiosis - Calf- Oocysts- Risk Factors.

مختصر:

من اجل تحديد التفاعل بين افراز خفيات الأبواغ و عوامل الخطر المتورطين في انتشار داء خفيات الأبواغ في مزارع الأبقار. ٢٢٣ عينة براز من العجول بين ١ يوم و ٩٠ يوم، مأخوذة من ٥ اكبر مزارع لتربية الأبقار الحلوب موزعة على ثلاث مناطق في وسط الجزائر، و هي الجزائر العاصمة، تيبازة، البلدية، لتحديد معدل إفراز بيض خفيات الأبواغ باستخدام تقنية تركيز ريتشي المبسطة من طرف الان و رادلي تليها مراقبة تحت المجهر الضوئي بعد استعمال طريقة تلوين زانيلسون المعدلة من طرف هنركسن وبوهلنز. النتائج تظهر على معدل انتشار 37.66 %. العمر يبدو أنه العامل الأكثر أهمية في التأثير يبدأ الإفراز 7٧ ايام من عمر العجل، ثم يمر بذروة ما بين ٢٣ يوم و ٣٩ يوم مما يدل على أهمية حاملات صحية في انتشار مستوى الإصابة، ثم تنخفض لتصل الى قيمتها الدنيا في ٨٠ يوم. تقديم البأ بطرق متفق عليها يسمح بتخفيف اعراض الإصابة. تلقيح الأبقار الحوامل ضد الفيروسات والنيكتريات المسببة للإسهال عند العجل، لا يبدو أنه يلعب دورا في معدل إفراز البويضات من سلبيات ، تجديد متكررة من القمامة والتطهير و الفصل بين اختلاف العجول العمر يبدو لعبت أكثر أو أقل أهمية في الاختلاف من إفراز

كلمات البحث: داء خفيات الأبواغ- العجل- عوامل الخطر- الأبواغ

Liste des photos

photo 1 oocytes de cryptosporidium colores avec la technique auramine phenol	70
photo 2 oocytes de cryptosporidium colores avec la technique de ziehl-neelsen modifiee	71
photo 3: oocystes de cryptospridium (gx100+ zoom de l'appareil photo) colore par la technique de ziehl- neelsen (originaux)	93
photo 5: materiel pour prelevement et acheminement des prelevements	130
photo 7 : technique de prelevement de selle chez le veau	
photo 8: diarrhee chez un veau	130
photo 9: les etapes de la technique de Ritchie	131
photo 10 : etapes de coloration de ziehl-neelsen modifiee par henriksen et pohlenz	133

Liste des tableaux :

Tableau 2 : Composition du colostrum, lait de transition et du lait chez la holstein	15
Tableau 3 : relation entre le taux d'igG sanguins du veau et mortalite	16
Tableau 3 classification taxonomique de cryptosporidium	31
tableau 4: liste des especes de cryptosporidium reconnus comme valide	34
tableau 5: comparaison de la prevalence de la cryptosporidiose en fonction du type d'elevage en france	48
tableau 7 prevalence de cryptosporidiose en fonction du statut clinique	49
tableau 7 : excretion d'oocystes de cryptosporidium	51
tableau 8 : les avantages et inconvenients des methodes diagnostiques des oocystes de cryptosporidium	74
tableau 9 : prevalence globale de cryptosporidium dans les elevages d'etudes	94
tableau 10 prevalence de cryptosporidium en fonction du statut clinique	95
tableau 11 prevalence de cryptosporidium en fonction du sexe	96
tableau 12 frequence de cryptosporidium en fonction du statut immunitaire de la mere	97
tableau 13 frequence de cryptosporidium en fonction de la prise colostrale	98
tableau 14 : frequence de cryptosporidium en fonction de l'age	99
tableau 15 : prevalence de cryptosporidium en fonction du renouvellement de la litiere	102
tableau 17: prevalence de cryptosporidium selon le nombre de veaux par box	103
tableau 17: frequence de cryptosporidium en fonction de l'hygiene generale de l'etablie	104

Liste des figures :

figure 1: developpement de l'immunité du veau de la conception a la puberte	14
figure 2 : concentration serique d'igg apres des repas colostrales de 4l ou 2l	23
figure 3 : survie des veaux en fonction de leur concentration serique en igG	25
figure 4 : representation schematique du cycle de vie de <i>c.parvum</i>	35
figure 5 : microscopie electronique a balayage d'oocystes et de sporozoïtes apres excystation	36
figure 6 : microscopie electroniques a transmission. etapes initiales d'invasion cellulaire	38
figure 7: microscopie electronique a transmission. stade d'interiorisation du sporozoïte	40
figure 8: cycle biologique de <i>cryptosporidium. spp</i>	42
figure 9 facteurs de risque d'apparition des diarrhees	56
figure 10 les voies de transmission de <i>c. parvum</i>	60
figure 22 les voies de transmission de <i>c. hominis</i>	61

Table des matières

1	INTRODUCTION :	11
1	Etude de l'immunité chez le veau et l'importance du colostrum :	13
1.1	Rappels sur le statut immunitaire du veau nouveau-né :	13
1.2	Colostrogénèse, composition et rôles du colostrum :	14
1.2.1	Les immunoglobulines :	15
1.2.2	Les leucocytes maternels :	17
1.2.3	Les cytokines, facteurs de croissance et autres composants :	17
1.2.4	Nutriments :	18
1.3	Transfert passif de l'immunité : mécanismes et intervalle de transfert :	18
1.4	Facteurs de modification du colostrum :	19
1.4.1	Race :	20
1.4.2	Âge du troupeau :	20
1.4.3	Alimentation en pre-partum :	20
1.4.4	Saison de vêlage :	21
1.4.5	Quantité de colostrum :	21
1.4.6	Etat sanitaire de la vache :	21
1.4.7	Vaccination des vaches gestantes :	21
1.4.8	Durée de la période de tarissement :	22
1.4.9	Prélèvement différé du colostrum :	22
1.4.10	Administration du colostrum :	22
1.5	Facteurs influençant l'absorption des immunoglobulines :	24
1.5.1	Désordres métaboliques :	24
1.5.2	Stress thermique :	24
1.5.3	Contamination bactérienne du colostrum :	24
1.6	Évaluation de la qualité colostrale et outils de mesure :	24
2	La Cryptosporidiose :	26
2.1	Définition :	26

2.2	Historique :	28
2.3	Biologie Du Parasite :	29
2.3.1	Classification (Taxonomie) :	29
2.3.2	Les exigences en matière d'identification des espèces :	32
2.3.3	Cycle de vie :	34
2.4	Pouvoir pathogène du genre <i>Cryptosporidium</i> :	43
2.5	Symptomes et lésions :	44
2.5.1	Chez les bovins :	44
2.5.2	Chez l'homme :	46
2.6	Epidémiologie :	47
2.6.1	Chez les bovins :	47
2.6.2	Epidémiologie analytique :	50
2.6.3	Chez l'homme :	56
2.7	Diagnostic :	62
2.7.1	Détection :	62
2.7.2	Mise en évidence du parasite :	63
2.7.3	La détection d'anticorps :	74
2.7.4	Examens histologique :	75
2.7.5	Diagnostic moléculaire :	75
2.8	Traitement :	75
2.8.1	Traitement spécifique :	75
2.8.2	Traitement non spécifique :	77
2.9	Prophylaxie :	81
2.9.1	Mesures de prévention de la contamination animale.	81
2.9.2	Comment éviter la contamination de l'homme :	85

PARTIE EXPERIMENTALE

1	Objectifs	87
2	Matériel et méthodes	87
2.1	Matériel	87
2.1.1	Elevages	87
2.1.2	Matériel de laboratoire	89
2.2	Méthodes	90
2.2.1	Protocole de prélèvement	90
2.2.2	Techniques de laboratoire utilisées	91
3	Analyses statistiques	94
4	Résultats	94
4.1	Prévalence globale de Cryptosporidium dans les régions d'étude	94
4.2	Prévalence de Cryptosporidium en fonction du statut clinique	95
4.3	Prévalence de Cryptosporidium en fonction du sexe	96
4.4	Prévalence de Cryptosporidium selon le statut immunitaire de la mère	97
4.5	Prévalence de Cryptosporidium en fonction de la prise colostrale	98
4.6	Prévalence de Cryptosporidium en fonction de l'âge	99
4.7	Prévalence de Cryptosporidium en fonction du renouvellement de la litière :	101
4.8	Prévalence de Cryptosporidium en fonction du nombre de veaux par box	102
4.9	Prévalence de Cryptosporidium en fonction de l'hygiène générale de l'étable : ...	103
5	Discussion :	105
5.1	Méthodes de prélèvements :	105
5.1.1	Elevages :	105
5.1.2	Prélèvements :	105
5.2	Techniques utilisées au laboratoire :	105
5.2.1	Technique de Ritchie :	105
5.2.2	Coloration de Ziehl- Neelsen :	106
5.3	Discussion des résultats :	106

5.3.1	Prévalence globale dans les élevages :	106
5.3.2	Prévalence de Cryptosporidium en fonction du statut clinique :	106
5.3.3	Prévalence de Cryptosporidium en fonction du sexe :	107
5.3.4	Prévalence de Cryptosporidium selon le statut immunitaire de la mère :	107
5.3.5	Prévalence de Cryptosporidium en fonction de la prise colostrale :	108
5.3.6	Prévalence de Cryptosporidium en fonction de l'âge :	108
5.3.7	Prévalence de Cryptosporidium en fonction du rythme de renouvellement de la litière :	110
5.3.8	Prévalence de Cryptosporidium en fonction du nombre de veaux par box : ..	110
5.3.9	Prévalence de Cryptosporidium en fonction de l'hygiène générale de l'étable	111
6	Conclusion :	112
	Références Bibliographiques	113
7	ANNEXES 1	130

1 INTRODUCTION :

La naissance constitue une étape particulière, au cours de laquelle, le fœtus change de mode et de milieu de vie. Ainsi la période néonatale constitue une période assez critique dans la vie de tout jeune animal. (Boussenna et Sfaksi, 2009)

Dès sa naissance, le jeune veau est en perpétuelles agressions par les germes de l'environnement, certains vont jouer un rôle faste suite à leur implantation dans le tube digestif. D'autre pathogène vont eux jouer un rôle néfaste aboutissant aux pathologies néonatales, parmi ces pathologies néonatales la diarrhée constitue la plus importante des entités. La diarrhée néonatale reste un problème majeur du veau nouveau-né. Elle serait la cause la plus importante de mortalités au cours des 2 premiers mois de vie du veau. Le taux de morbidité varie de 10 % à 80 % suivant les élevages (Ravary et Sattler, 2006). En France 14.6% (Bendali et al., 1999 ; Rousseau, 2006). au Maroc par Fassi-Fehri en 1989 , était de 64% (Fassi-Fehri et al., 1989), de 62.1% en Allemagne (Lorenz, 2006)

Le taux de mortalité varie quant à lui de 1,5 à 10 %. (Foliaveterinaria, 2010). En Grande Bretagne et en France, ce taux a été d'environ 3% (Reynolds et al., 1986 ; Bendali et al., 1999) en Suède il était de 3,1% (Svensson et al., 2006) et 9% (Torsein et al., 2011), au maroc il était de 4% (Fassi-Fehri et al., 1989). en tunisie en 1988 il était a 20.4% pour des veaux entre la naissance et trois mois (Zrelli et al., 1988). En plus de cette mortalité d'autres aspects de pertes économiques sont causées par la diarrhée, en effet Les manifestations de diarrhée néonatale du veau peuvent être coûteuses, particulièrement pour des producteurs de bœuf, car le traitement des veaux affectés est long, et la mort d'un veau représente le manque à gagner à partir de cette unité de vache-veau pendant l'année (Bradford et Smith, 2008). En plus des pertes économiques à l'industrie laitière due au progrès génétique retardé, la diarrhée néonatale constitue un frein dans le développement staturo-pondéral des veaux convalescents.

En outre, la diarrhée constitue un facteur de risque dans l'apparition d'autres pathologies plus tard dans la vie du veau, de plus elle peut constituer un risque sanitaire pour l'être humain en effet certain germe d'origine animale peuvent contaminer l'environnement (eau, aliment, essentiellement) et constitues ainsi un danger pour l'homme (Xiao et al., 2004 ; Gordon, 2008)

En Algérie les enquêtes réalisées à ce jour montrent que ce syndrome vient en tête des Pathologies conduisant à des pertes de veaux pendant la période néonatale, (Khelef, 2007). Une enquête menée en 2009 par Boussena et Sefaksi, dans l'est algérien, a montré un taux de mortalité de 10.61% (Boussena et Sfaksi, 2009), une autre étude menée par Saidi et collaborateurs, a donné un taux de 6,81% (Saidi et al., 2009).

Les causes les plus fréquentes de ces diarrhées sont d'origine infectieuse, elles font intervenir un nombre important de germe, dont les plus importants sont les bactéries (colibacilles et salmonelles), les virus (coronavirus, rotavirus) et les parasites (Cryptosporidium et Giardia).

Ces germes ne jouent pas leur rôle infectieux sans que le terrain ne soit propice, c'est à ce niveau qu'interviennent les facteurs prédisposant ou les facteurs de risques dont les plus importants sont : l'état sanitaire de l'élevage, la gestion du troupeau, transfert passif de l'immunité, la nutrition des veaux, l'hygiène des locaux et l'hygiène au vêlage, le statut de vaccination et la santé des vaches (Chris et al., 2010 ; Rieux et al., 2013).

Parmi les germes les plus incriminés et les plus difficiles à gérer, Cryptosporidium constitue une entité pathologique très importante (De Graaf, 1999). L'excrétion d'oocystes constitue la forme de dissémination de ces parasites ce qui rend les facteurs de l'environnement, l'immunité du veau, l'hygiène générale et de la litière les facteurs de risque les plus importants, c'est dans ce contexte que notre étude est focalisée, à savoir l'interaction de ces facteurs avec le taux d'excrétion des oocystes au niveau fécale du veau.

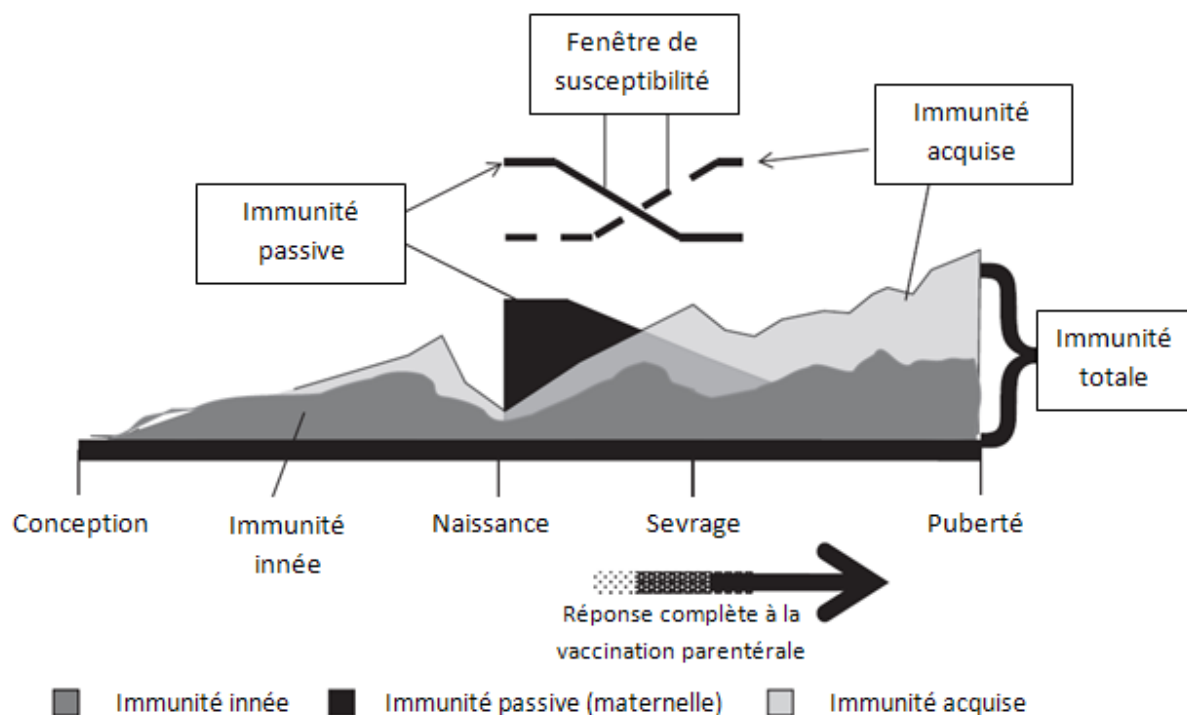
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

1 Etude de l'immunité chez le veau et l'importance du colostrum :

1.1 Rappels sur le statut immunitaire du veau nouveau-né :

Le veau naît dépourvu d'immunité, il est donc agammaglobulinémique, cet état est due à la particularité structurale du placenta chez la vache qui est de type syndesmochoriale, le contact entre le compartiment fœtale et maternelle n'est pas possible, ce qui rend le transfert des macromolécules, entre autre les anticorps maternelle quasi impossible. L'immunité locale du veau est totalement liée à la transmission passive par la voie orale des immunoglobulines via le colostrum (Naciri et al., 2000). On parle de transfert passif, qui confère une protection immunologique pendant au moins 2 à 4 semaines de vie, jusqu'à ce que son propre système immunitaire devienne fonctionnel (Maes , 2010). L'absorption de colostrum est donc le facteur favorable pour une meilleure néonatalité. De plus, la quantité de colostrum est importante de même que sa qualité (Naciri et al., 2000). Le développement du système immunitaire se fait petit à petit, à partir de sa conception jusqu'à l'âge de six mois où il est mature (Chase et al., 2008).

Figure 1: Développement de l'immunité du veau de la conception à la puberté (chase et al., 2008).



1.2 Colostrognèse, composition et rôles du colostrum :

Le processus de la lactogenèse débute plusieurs semaines avant le part, sous la dépendance d'hormones lactogènes essentiellement la prolactine, et s'arrête brutalement au moment du vêlage. Le colostrum bovin est un mélange de sécrétions lactées et de constituants sériques, et plus particulièrement d'IgG et autres protéines sériques, qui s'accumulent dans la glande mammaire peu avant le part (Foley et Otterby, 1978).

Après la mise bas, la première sécrétion de la glande mammaire constitue le colostrum.

C'est un liquide jaunâtre, épais et visqueux. Sa densité est de 1.060 (Ravary et Sattler, 2006), les constituants les plus importants du colostrum sont les immunoglobulines, chaque composant transféré possède une importance dans l'organisme du veau. Les concentrations de ces composants sont maximales dans les premières sécrétions colostrales puis diminuent au cours des six premières tétées pour atteindre le seuil de concentration que l'on mesure en routine dans le lait de consommation (Foley et Otterby, 1978).

Tableau 1 : composition du colostrum, lait de transition et du lait chez la Holstein (Foley et Otterby , 1978)

Paramètres	Colostrum		Lait de transition (post-partum)	Lait
	1	2	3	6
Densité	1,056	1,04	1,035	1,032
Nutriments (%)	23,9	17,9	14,1	12,9
Lipides (%)	6,7	5,4	3,9	4
Protéines totales (%)	14	8,4	5,1	3,1
Caséine (%)	4,8	4,3	3,8	2,5
Albumine (%)	6	4,2	2,4	0,5
Immunoglobulines (%)	6	4,2	2,4	0,09
IgG (g/l)	32	25	15	0,6
Lactose (%)	2,7	3,9	4,4	5
IGF-I (µg/l)	341	242	144	15
Insuline (µg/l)	65,9	34,8	15,8	1,1
Cendres (%)	1,11	0,95	0,87	0,74
Calcium (%)	0,26	0,15	0,15	0,13
Magnésium (%)	0,04	0,01	0,01	0,01
Zinc (mg/l)	12,2	–	6,2	3
Manganèse (mg/l)	0,2	–	0,1	0,04
Fer (mg/kg)	2	–	–	0,5
Cobalt (µg/kg)	5	–	–	1
Vitamine A (µg/l)	2950	1900	1130	340
Vitamine E (µg/g de lipides)	84	76	56	15
Riboflavine (µg/ml)	4,83	2,71	1,85	1,47
Vitamine B12 (µg/l)	49	–	25	6
Acide folique (µg/l)	8	–	2	2
Choline (mg/ml)	0,7	0,34	0,23	0,13

1.2.1 Les immunoglobulines :

Les IgG, IgA et IgM représentent approximativement 85-90%, 5% et 7%, respectivement, des immunoglobulines colostrales, avec les IgG1 représentant à elles seules 80 à 90% du total des IgG (Larson et al., 1980). Les IgG et plus particulièrement les IgG1 sont transférées du flot sanguin vers le colostrum à travers la barrière mammaire par un transport spécifique : les récepteurs des cellules épithéliales des alvéoles mammaires capturent les IgG1 des fluides

extracellulaires par endocytose, puis elles sont transportées et enfin relarguées dans la lumière des alvéoles (Larson et al., 1980) .

Les cellules épithéliales alvéolaires cessent d'exprimer ce récepteur en réponse à des concentrations croissantes de prolactine au début de la lactation (Barrington et al., 1997). De petites quantités d'IgA et IgM sont issues d'une synthèse locale par les plasmocytes de la glande mammaire (Larson et al., 1980). Bien que l'on ne connaisse pas encore bien le mécanisme, on a aussi un transfert colostral d'IgE qui se produit et qui pourrait jouer un rôle important en procurant une protection précoce contre les parasites intestinaux (Thatcher et Gershwin, 1989).

Ce transfert d'anticorps maternels joue un rôle très important pour lutter contre les pathologies mais d'autre part elle interfère avec la capacité du veau à développer une immunité face à un antigène vaccinal. La différence dans la classe des immunoglobulines contenus dans le colostrum est en fonction des micro-organismes présents dans l'environnement et auxquelles les mères ont été exposées, mais également des vaccinations que la mère aurait subies en fin de gestation.

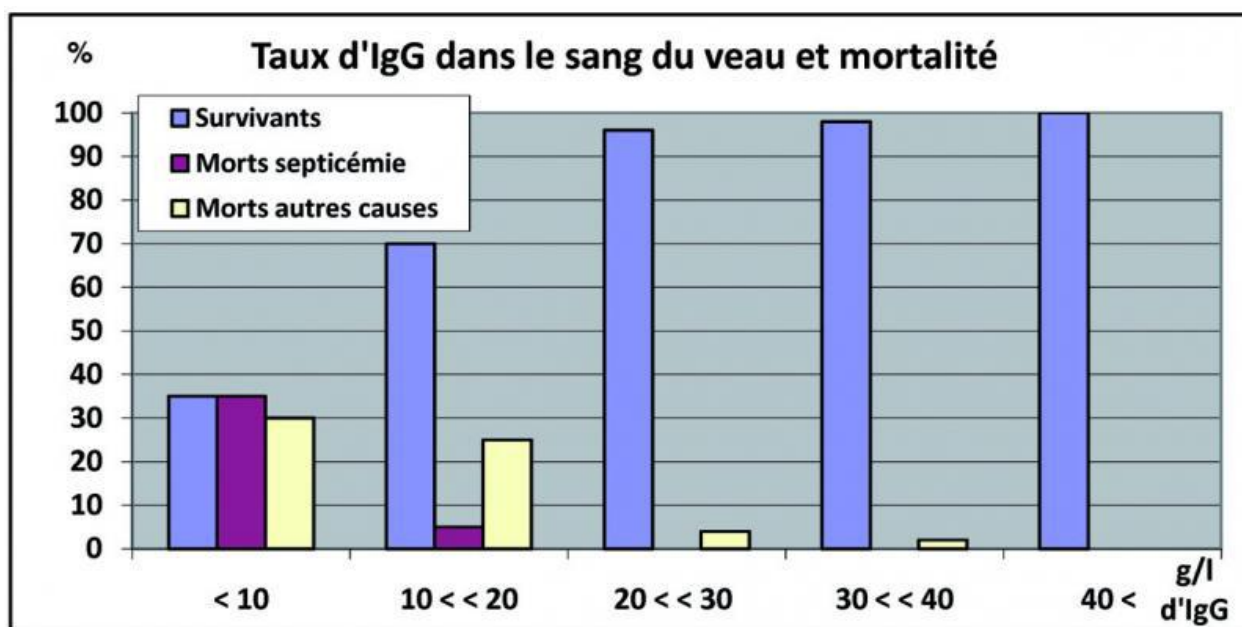


Tableau 2 : relation entre le taux d'IgG sanguins du veau et mortalité (La Creuse Agricole, 2010)

Il existe une relation directe entre les taux de mortalité et de morbidité au sein d'un élevage et la concentration d'anticorps du veau à 24/48 heures. La concentration minimale nécessaire se

situé de 15 à 20 g/l de sérum. Les veaux privés totalement de colostrum présentent une mortalité voisine de 90% (La Creuse Agricole, 2010)

1.2.2 Les leucocytes maternels

Le colostrum bovin d'une vache contient au moins 1.10^6 cellules/ml de leucocytes maternels immunologiquement actifs et fonctionnels dès leur absorption par le veau, incluant les macrophages, les lymphocytes B et T, et les neutrophiles (Foley et Otterby, 1978 ; Riedel-Caspari et Schmidt , 1991 ; Le Jan, 1996). Au moins une partie de ces leucocytes colostraux sont absorbés intacts à travers la barrière intestinale (Schnorr et Pearson , 1984). La voie préférentielle empruntée par ces leucocytes consiste à passer à travers les plaques de Peyer dans le jéjunum et l'iléon (Liebler et al., 2002). Par contre une étude de Reber et al en 2006 montre que les leucocytes maternels entrent dans la circulation du veau nouveau-né , puis circulent vers les tissus non lymphoïdes et tissus lymphoïdes secondaires, pour ensuite disparaître de la circulation 24 à 36 heures après la prise de colostrum.

1.2.3 Les cytokines, facteurs de croissance et autres composants :

D'autres composants importants de colostrum incluent des facteurs de croissance, des hormones, des cytokines, et des facteurs antimicrobiens non spécifiques. Les composants bioactifs du colostrum avec l'activité antimicrobienne incluent la lactoferrine, le lysozyme, et la lactoperoxydase (Pakkanen et Aalto , 1997 ; Elfstrand et al., 2002).

Les oligosaccharides du colostrum peuvent assurer la protection contre des microbes pathogènes en agissant en tant qu'inhibiteurs concurrentiels pour les récepteurs sur les surfaces épithéliales de l'intestin (Przybylska et al., 2007). Les facteurs de croissance du colostrum bovin, sont représentés par le facteur de croissance de transformation de la $\beta 2$, hormone de croissance et l'insuline, mais leurs rôles exactes n'ont pas été encore élucidés (Pakkanen et Aalto , 1997). Le facteur de croissance insulinique semble jouer un rôle dans le développement du tractus digestif du veau en stimulant d'une part la croissance de la muqueuse, stimulation de la formation des enzymes de la bordure en brosse, et d'autre part favorise la synthèse de l'ADN intestinal, augmente la taille des villosités et augmente l'absorption du glucose (Baumrucker et al., 1994 ; Buhler et al., 1998). L'inhibiteur de la trypsine, composé retrouvé dans le colostrum à des taux 100 fois supérieure qu'au niveau du lait, joue un rôle protecteur de l'IgG et d'autres protéines contre la dégradation au niveau de l'intestin du veau (Godden , 2008).

1.2.4 Nutriments :

Bien que l'importance immunologique du colostrum soit fréquemment remise en cause, l'utilité nutritionnelle du premier repas colostral ne devrait pas être contestée. La proportion des nutriments dans le colostrum et le lait de vaches Holstein est en moyenne de 23.9% et 12.9%, respectivement (Foley et Otterby , 1978 ; Larson et al., 1980). Cette différence entre le colostrum et le lait est attribuée à l'augmentation du contenu protéique du colostrum par rapport au lait, et plus particulièrement des immunoglobulines et de la caséine (Davis et Drackley, 1998). L'énergie provenant des graisses et du lactose dans le colostrum est indispensable à la thermogénèse et à la régulation de la température corporelle. Certaines vitamines et minéraux, dont le calcium, le magnésium, le zinc, le manganèse, le fer, le cobalt, la vitamine A, la vitamine E, le carotène, la riboflavine, la vitamine B12, l'acide folique, la choline et le sélénium sont aussi retrouvés en quantités plus importantes dans le colostrum que dans le lait (Foley et Otterby , 1978 ; Przybylska et al., 2007). Outre le passage des anticorps et autres composés colostraux de la mère à son petit via l'absorption intestinale, le colostrum joue d'autres rôles tels que la stimulation de la motricité intestinale et l'aide à la colonisation du tube digestif par des bactéries opportunistes qui constitue une barrière microbienne contre les agents pathogènes (Ravary et Sattler , 2006).

1.3 Transfert passif de l'immunité : mécanismes et intervalle de transfert

Chez les veaux normaux, l'absorption colostrale est faite à travers les cellules intestinales épithéliales par liaison au FcRn (récepteur néonatal au fragment Fc des immunoglobulines), et pinocytose en utilisant un transport vacuolaire (Israel et al, 1995 ; Baitner, 2007). À partir de là, les immunoglobulines sont transportées à travers la cellule et relarguées dans les vaisseaux lymphatiques par exocytose, après quoi elles rentrent dans la circulation générale via le canal thoracique (Staley et al., 1972).

Le transfert se fait en un laps de temps très court, en effet les cellules de l'intestin du nouveau-né se transforment en cellules épithéliales matures dès qu'ils sont en contact avec n'importe quel aliment, dès lors l'absorption des immunoglobulines devient impossible. La capacité d'absorption commence à diminuer à partir de 6 heures et cesse totalement à 48 heures (Sangild, 2003 ; Baitner, 2007). À 6 heures, il ne reste approximativement que 50% de la capacité d'absorption ; à 8 heures il n'en reste que 33% et à 24h il n'y en a généralement plus (Rischen, 1981).

La majeure partie du colostrum doit donc être absorbée dans les 12 premières heures et surtout dans les 6 premières heures de vie. Dans une étude de Chigerwe et al., il est montré que le volume de colostrum ingéré au cours du premier repas du veau et l'intervalle entre la naissance et le premier repas sont des facteurs importants affectant les concentrations sériques en IgG des veaux nourris à la main : pour les veaux ayant bu autant de colostrum qu'ils pouvaient dans les 4 heures suivant la naissance, le risque d'échec de transfert passif de l'immunité est réduit. Par contre, ceux qui n'ont pas ingéré au moins 3 l de colostrum dans les 4 premières heures de vie devraient recevoir du colostrum par sonde œsophagienne (Chigerwe et al., 2009).

La protection locale du veau est assurée par les immunoglobulines ingérées, les IgG ont une durée de vie de 15J, les IgM eux ont une durée de 4J, alors que les IgA ont 2J de survie seulement. A l'âge de 15j le veau voit son taux d'immunoglobuline diminué à un taux basale, alors que son propre arsenal en immunoglobuline n'a pas encore atteint un taux protecteur, c'est une période critique pour le veau, c'est le « trou immunitaire ». C'est une période pendant laquelle le veau est vulnérable aux attaques par les différents agents pathogènes. On recommande généralement un volume de 6% du poids vif du veau en colostrum dans les 4 heures qui suivent la naissance, et de 10 à 15% du poids vif du veau dans les 24 premières heures de vie. Le premier repas est cruciale il doit être administré au veau soit en tétant sa mère directement, soit traire la vache et donner le colostrum au biberon. Si le veau est incapable de téter, il faut utiliser une sonde œsophagienne. Retarder l'heure de la première prise colostrale peut seulement légèrement décaler la fermeture de la barrière intestinale à 36 heures (Stott et al., 1979). Il est recommandé aux éleveurs d'avoir une banque de colostrum, c'est-à-dire du colostrum de très bonne qualité congelé (plusieurs mois de conservation) ou réfrigéré (deux à trois jours de conservation) pour en avoir toujours à disposition si un veau en a un jour besoin (Ravary et Sattler, 2006).

1.4 Facteurs de modification du colostrum :

La qualité et la quantité du colostrum peuvent être influencées par plusieurs facteurs. La teneur en immunoglobuline peut diminuer à cause d'une perte de colostrum anté-partum, cette dernière peut être due soit à une perte spontanée (sphincter lâches), soit à un veau voleur. De plus, la teneur en immunoglobulines est plus élevée à partir de la troisième lactation (Ravary et Sattler, 2006). Le niveau de corticostéroïdes néonataux doit être élevé pour augmenter l'absorption colostrale (Sangild, 2003). Le froid, les dystocies, la césarienne et le part prématuré constituent un stress capable d'inhiber la sécrétion de cortisol néonatale et

par la même occasion diminuer l'absorption de colostrum. L'administration de corticostéroïdes aux veaux prématurés devrait augmenter leurs chances de survie (Sangild et al., 2003).

La race et l'âge du troupeau sont des facteurs, difficiles à changer pour l'éleveur, et qui influencent directement la qualité du colostrum par contre d'autres facteurs influençables sont plus facilement modulables, il s'agit de la vaccination des vaches en gestation, la durée de la période de tarissement et le moment du prélèvement du colostrum.

1.4.1 Race :

Des études comparatives ont démontré qu'il peut y avoir une composante raciale à la qualité du colostrum (Muller 1981 ; Guy et al., 1994). En effet la concentration en IgG1 était plus élevée dans les troupeaux allaitants (113.4 g/l) que dans les troupeaux laitiers (42.7 g/l) (Guy et al., 1994). les Prim'Holstein ont produit un colostrum avec une teneur totale en IgG (5.6%) qui est numériquement plus faible que chez les Guernesey (6.3%) et les Brunes Suisses, et statistiquement plus faible que chez les Ayrshire (8.1%) et les Jersey (9.0%) (Muller et Ellinger, 1981).

Des facteurs génétiques et /ou des effets de dilution, ont été évoqués pour expliquer cette variation de qualité du colostrum.

1.4.2 Âge du troupeau :

Le colostrum de vaches en première, deuxième ou troisième lactation était respectivement de 66, 75 et 97 g/l (Tyler et al., 1999).

Il apparaît que les vaches âgées donnent un colostrum de meilleure qualité, de plus la teneur en immunoglobuline du colostrum chez les primipares et les second est plus faible que le colostrum des pluriparts. L'âge du troupeau peut donc être un facteur de modification du colostrum, mais les autres facteurs interviennent également.

1.4.3 Alimentation en pre-partum :

Les études montrent généralement que le taux d'IgG colostraux n'est pas affecté par l'alimentation en pré-partum (Blecha et al., 1981). des vaches supplémentées par injections de sélénium et vitamine E en fin de gestation produisent un volume de colostrum plus important que des vaches non supplémentées, quand toutes les vaches sont nourries avec un aliment pré-partum déficient en vitamine E et sélénium (Lacetera et al., 1996). Cependant il est à noter que ce traitement n'augmente pas la teneur en IgG.

1.4.4 Saison de vêlage :

Certaines études ont montré une association entre l'exposition à des températures élevées en fin de gestation avec un colostrum de mauvaise qualité, dont les concentrations en IgG et IgA sont plus faibles, et dont les taux de protéines totales, caséine, lactalbumine, lipides et lactose sont diminués (Nardone et al., 1997 ; Morin et al., 2001). Ces observations peuvent être attribuées aux effets négatifs du stress dû à la chaleur sur la prise alimentaire, conduisant à des restrictions alimentaires, une circulation sanguine réduite dans la mamelle, conduisant à un transfert d'IgG et de nutriments réduit du flot sanguin vers la mamelle, ou un défaut de réaction immunitaire des plasmocytes de la glande mammaire produisant les IgA (Nardone et al., 1997).

1.4.5 Quantité de colostrum :

Les vaches produisant moins de 8,5 kg de colostrum à la première traite avaient plus tendance à produire un colostrum de bonne qualité (> 50 g/l) que les vaches qui en produisent plus (> 8.5 kg) (Pritchett et al., 1991). Cette observation peut être attribuée à un effet de dilution, bien que des études plus récentes rapportent qu'il n'y a pas de relation évidente entre la concentration colostrale en IgG et la quantité de colostrum à la première traite (Grusenmeyer al., 2006).

1.4.6 Etat sanitaire de la vache :

Les infections intra-mammaires persistantes au cours de la période sèche sont associées à une diminution du volume de colostrum produit, mais sans altération de la concentration en IgG1 (Maunsell et al., 1998).

1.4.7 Vaccination des vaches gestantes :

Bien que toutes les études ne montrent pas de résultats positifs. Plusieurs études ont établi que la vaccination des vaches gestantes trois à six semaines avant le vêlage augmente la concentration des anticorps colostraux protecteurs, et augmente également le taux d'anticorps maternels chez les veaux d'élevages vaccinés vis-à-vis de certains agents pathogènes dont *Mannheimia haemolytica*, *Salmonella* Typhimurium, *Escherichia coli*, les rotavirus et coronavirus (Myers et Snodgrass , 1982 ; Archambault et al., 1988 ; Jones et al., 1988 ; Hodgins et Shewen , 1996).

1.4.8 Durée de la période de tarissement :

Cinque semaine avant le vêlage la synthèse d'IgG au niveau de la barrière de la glande mammaire commence. La durée de la période de tarissement (moyenne de 57.5 ± 11 jours) n'a pas été associée avec des variations de la concentration colostrale en IgG (Pritchett et al., 1991). Dans une autre étude (Rastani et al., 2005), ont rapportés que la qualité du colostrum n'était pas différente entre des vaches ayant eu une période de tarissement de 28 ou 56 jours. Par contre, les vaches ayant une période de tarissement excessivement courte (< 21 jours) ou sans période de tarissement produisaient un colostrum avec une concentration colostrale en IgG significativement plus basse (Rastani et al., 2005). De plus le volume de colostrum va être affecté par cette courte période de tarissement comme le montre l'étude menée par Grusenmeyer et al, les vaches avec une période sèche courte (40 jours) produisaient 2.2 kg de colostrum de moins que ne le faisaient les vaches avec une période sèche conventionnelle (60 jours) (Grusenmeyer et al., 2006).

1.4.9 Prélèvement différé du colostrum :

Immédiatement après le vêlage, la concentration colostrale en IgG est plus élevée, et commence à diminuer avec le temps si la prise colostrale est retardée. Retarder le prélèvement de colostrum de 6, 10 ou 14 heures après le vêlage conduit à une diminution de 17, 27 ou 33% de la concentration colostrale en IgG respectivement (Moore et al., 2005).

1.4.10 Administration du colostrum :

L'heure du premier repas est conditionnée par la méthode de prise colostrale, ce facteur influence également le volume colostrale consommé et l'efficacité de l'absorption des immunoglobulines. Un taux élevé d'échecs de transfert passif de l'immunité a été rapporté dans les élevages où l'on laisse le veau téter seul (Brignole et Stott, 1980 ; Besser et al., 1991). Ce phénomène peut être dû à une consommation faible volontaire de la part du veau. 46% des veaux nés de multipares laitières ne prenaient pas leur premier repas dans les 6 premières heures de vie, contre 11% pour les veaux nés de génisses. (Edwards et Broom, 1979). Plusieurs facteurs peuvent être mise en cause ; la faiblesse ou des blessures des vaches ou des veaux, une mamelle très basse ou ayant des trayons trop larges, ou des vaches ayant des capacités maternelles faibles.

Pour ce faire, les recommandations de laisser le veau isolé du troupeau pendant les 2 premières heures suivant le vêlage ont été données. Le veau est nourri à la main avec un

volume de colostrum connu en utilisant un biberon ou une sonde œsophagienne (McGuirk et Collins, 2004).

Pour obtenir un bon transfert passif de l'immunité pour un veau Holstein de 43 kg, des chercheurs ont calculé que l'éleveur doit administrer au moins 100g d'IgG dans la première tétée (Curtiss et al., 1993). Dans la pratique, il est difficile de déterminer le taux d'IgG dans un colostrum, il est recommandé de donner 10% à 12% du poids corporel du veau en colostrum ce qui équivaut à donner 3,78L pour 43kg (Godden, 2008).

Dans une étude de Morin et al., la concentration sérique des veaux en IgG à 24 heures était significativement plus élevée pour des veaux nourris avec 4 l de colostrum de bonne qualité au cours de la première heure suivant la naissance et avec 2 l à 12h (31.1 g/l) que pour des veaux nourris seulement avec 2 l de colostrum de bonne qualité au cours de la première heure suivant la naissance et avec 2 l à 12h (23.5 g/l) (Morin et al., 1997)

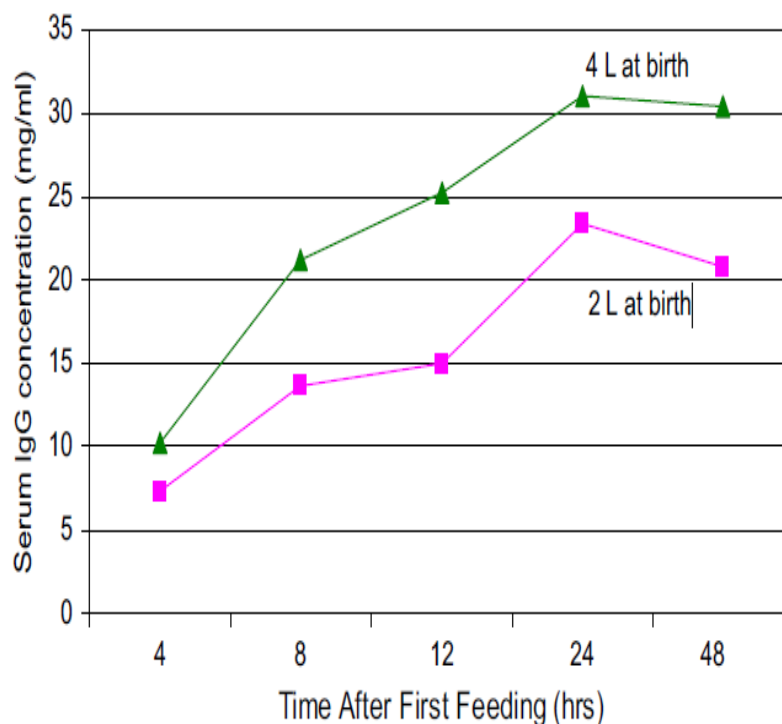


Figure 2 : concentration sérique d'IgG après des repas colostrales de 4L ou 2L (Morin et al., 1997)

1.5 Facteurs influençant l'absorption des immunoglobulines :

1.5.1 Désordres métaboliques :

Une diminution de l'absorption d'immunoglobulines dans les 12 premières heures a été rapportée chez les veaux ayant une acidose respiratoire post-natale, associée à un vêlage prolongé (Besser et al., 1990). Bien que chez les veaux hypoxiques la prise de colostrum soit retardée, des études ont montré qu'il n'y a pas de différence sur la capacité d'absorption entre les veaux hypoxiques ou normaux et qu'il n'y a pas de différence de concentration sérique en IgG au moment de la fermeture de la barrière intestinale (Drewry et al., 1999). l'augmentation du taux d'échecs de transfert passif de l'immunité observé chez les veaux présentant une acidose métabolique ou respiratoire peut être la conséquence du retard de la prise colostrale par le veau, et non une capacité d'absorption réduite. (Weaver et al., 2000).

1.5.2 Stress thermique :

L'absorption d'immunoglobulines peut être diminuée lorsque les veaux nouveau-nés sont exposés à des températures extrêmement froides, sûrement en raison des effets directs sur l'absorption intestinale et le transport des immunoglobulines, et indirectement de la capacité du veau à se lever et se nourrir (Olson et al., 1981) .

1.5.3 Contamination bactérienne du colostrum :

La présence de bactéries dans le colostrum peut avoir deux effets : soit les bactéries se lient à des immunoglobulines libres dans la lumière intestinale, ou alors elles bloquent le transport des immunoglobulines à travers les cellules épithéliales intestinales, ce qui a pour conséquence d'interférer avec l'absorption passive d'immunoglobulines colostrales (Poulsen et al., 2002).

1.6 Évaluation de la qualité colostrale et outils de mesure

La prise et l'absorption sont deux facteurs essentiels dans la détermination d'un bon Transfer d'immunoglobulines. La quantité et la qualité du colostrum influencent sur le taux d'immunoglobulines. Ces deux facteurs sont sous la dépendance de la génétique de la vache ainsi que de son état sanitaire et l'alimentation.

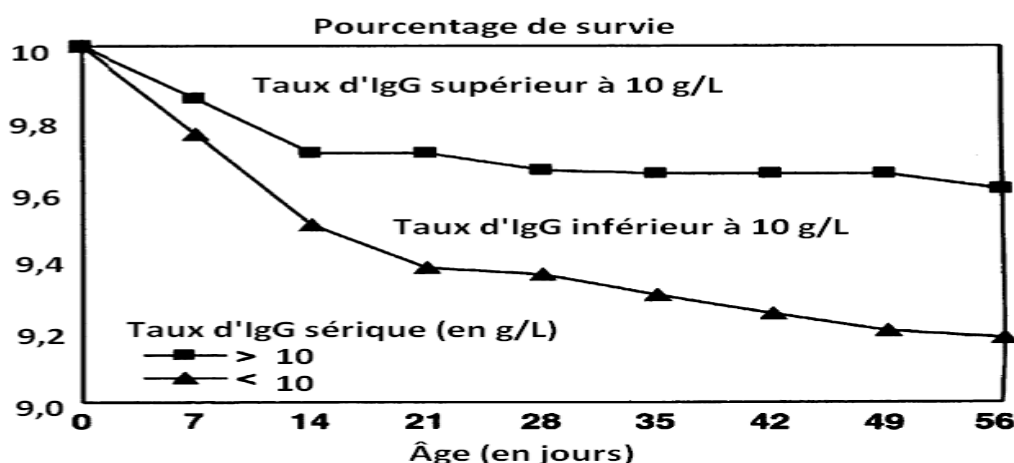
Un colostrum de très bonne qualité a une concentration en IgG supérieure à 50 g/l (McGuirk et Collins, 2004).

Dans une étude récente, la moyenne de la concentration en IgG dans le colostrum de vaches Holstein atteignait 76 g/l, mais les valeurs individuelles s'étaient de 9 à 186 g/l (Swan et al.,

2007). De cette étude, il apparaît que le taux d'IgG varie d'une vache à une autre. Il a été estimé qu'approximativement 31% des mortalités de veaux en présevrage durant les 3 premières semaines de vie des veaux étaient dues à un échec de transfert de l'immunité passive (Wells et al., 1996).

On définit que des veaux ont eu un échec de transfert de l'immunité passive si la concentration sérique en IgG est inférieure à 10 g/l, quand le sang est prélevé entre 24 et 48 heures d'âge (National Animal Health Monitoring System, 1996 ; Weaver et al., 2000)

Figure 3 : Survie des veaux en fonction de leur concentration sérique en IgG (National Animal Health Monitoring System, 1996)



Des recommandations empiriques suggèrent de jeter un colostrum qui est visiblement trop liquide, qui a du sang, ou qui provient d'une vache faible avant le vêlage (Bovine Alliance on Management and Nutrition (BAMN), 2001). Il est difficile de prédire sur la seule base de ces critères visuels, la quantité de colostrum produite ou bien sa qualité (Maunsell et al., 1999). Un test rapide et peu coûteux réalisable directement à côté de la vache, existe, c'est le colostometre (instrument qui donne une estimation de la concentration en IgG en mesurant la densité du colostrum) et peut se révéler utile pour différencier le colostrum de bonne qualité de celui de mauvaise qualité. Il existe d'autres tests susceptibles de donner une estimation sur la qualité du colostrum on en citera les plus importants :

- Le dosage des immunoglobulines sanguines du veau âgé de 2 à 7 jours reflète la quantité d'immunoglobulines : soit par ELISA soit par IDR (immuno diffusion radial).

- Des tests semi-quantitatifs de précipitation des immunoglobulines au sulfate de sodium ou au sulfate de zinc permettent aussi de connaître la quantité d'immunoglobulines sériques.
- On peut aussi doser les protéines totales (PT) et l'albumine sériques.
- Dosage des gamma-glutamyltransférases sériques qui sont présentes en grande quantité dans le colostrum de bovins (Ravary et Sattler, 2006).
- La mesure des protéines totales au refractomètre.

2 La Cryptosporidiose:

2.1 Définition :

La cryptosporidiose est causée par des protozoaires parasites du genre *Cryptosporidium* (famille des *Cryptosporididae*, ordre des *Eucoccidiorida*, sous-classe des *Coccidiasina*, classe des *Sporozoasida*, phylum des *Apicomplexa*) (Fayer et al., 1999), *Cryptosporidium* a été décrit pour la première fois en 1907 chez des souris de laboratoire et a depuis été signalée dans plus de 155 espèces de mammifères, y compris les humains, et un grand nombre de reptiles et des hôtes aviaires. Bien que les études de coprolithes péruviens indiquent que *Cryptosporidium* était déjà répandue dans les populations humaines anciennes (Geurden et O'Handley, 2011). Pour les bovins laitiers, *Cryptosporidium* est devenue une préoccupation non seulement à cause des pertes économiques directes liées à l'infection, mais aussi dans une perspective de santé publique en raison du potentiel de contamination de l'environnement par les oocystes de *Cryptosporidium*. Des études moléculaires récentes de cryptosporidiose chez les bovins ont montré que les trois espèces et un génotype de *Cryptosporidium* sont responsables de la plupart des infections des bovins (*C. parvum*, *C. bovis* et *C. andersoni*, et *Cryptosporidium* cerfs-like génotype, connu actuellement sous l'appellation de *C. Ryanae*) (Lindsay et al., 2000 ; Santin et al., 2004 ; Fayer et al., 2005 , 2006, 2007, Feng et al., 2007).

Cryptosporidium parvum est essentiellement un parasite du nouveau-né bien qu'il soit décrit chez des individus de tout âge. Le parasite se localise dans les microvillosités de l'épithélium intestinal. La cryptosporidiose se caractérise chez les mammifères par des signes cliniques intestinaux, essentiellement de la diarrhée. Il existe une grande différence dans l'intensité de la clinique en fonction du statut immunitaire de l'hôte, homme ou animal : aiguë mais auto

résolutive chez les individus en bonne santé, la maladie devient chronique et mortelle chez les individus immunodéprimés.

Les veaux infectés peuvent présenter des signes cliniques allant de l'infection asymptomatique à une diarrhée profuse et une déshydratation (Fayer et al., 1998 ; Thompson et al., 2007). Ces animaux contaminent facilement leur environnement immédiat, les oocystes produits par veau infecté peut être jusqu'à 10^{10} par semaine (Fayer et al., 2004).

C'est un parasite « émergent » car bien qu'il soit répertorié depuis le début du 20ème siècle, son importance en santé animale et humaine ne s'est révélée que depuis ces quinze dernières années.

C. bovis et *C. ryanae* (ancien génotype cerfs-like), sont plus présent chez les veaux sevrés, et *C. andersoni* chez les génisses et les vaches laitières (Santín et al., 2008).

Chez l'homme, il a fallu attendre les infections de *Cryptosporidium* signalées comme cause de décès chez les patients atteints du SIDA dans les années 1980 pour que le parasite protozoaire soit accepté comme un agent pathogène zoonotique significatif justifiant la recherche scientifique. (Current et al., 1983).

Cryptosporidium a suscité un grand intérêt dans la santé publique après la grande épidémie d'origine hydrique humaine à Milwaukee en 1993 (MacKenzie et al., 1995) et devient rapidement comme l'un des plus graves et difficiles des pathogènes d'origine hydrique à contrôler à ce jour. Des rapports subséquents ont démontré sa distribution mondiale et un potentiel zoonotique. (Current et Garcia, 1991 ; Mosier et Oberst, 2000).

Chez l'homme et l'hôte non-humain, les méthodes moléculaires incluant la réaction d'amplification en chaîne par polymérase (PCR), l'analyse du polymorphisme de la longueur des fragments de restriction (RFLP) et le séquençage de l'ADN ont révélé un plus grand éventail d'espèces que prévu initialement. *C. meleagridis*, *C. canis*, *C. muris*, *C. felis* et *C. suis* ont été décrits chez des patients immunocompétents et des patients immunodéprimés, ainsi que *C. hominis* et *C. parvum*. Les oocystes de *C. meleagridis* à partir de fèces humains purifiés sont indiscernables de ceux de *C. parvum* selon les méthodes classiques (décrites dans ce chapitre), mais montre une identité génétique avec *C. meleagridis* du dindon sur divers locus géniques séparés. Il existe des preuves que *C. andersoni* peut infecter les humains. Pour les humains, la menace zoonotique la plus significative provient de *C. parvum* et *C. meleagridis* (OIE, 2008)

2.2 Historique :

La première personne à établir le genre *Cryptosporidium* et de reconnaître sa nature multi-espèce, était Ernest Edward Tyzzer, qui a décrit l'espèce type, *C. muris*, des glandes gastriques de souris de laboratoire (Tyzzer, 1907 ; cité par ; Xiao et al., 2004). Il a publié plus tard une description plus complète du cycle de vie (Tyzzer, 1910) et par la suite décrit une seconde espèce, également chez des souris de laboratoire (Tyzzer, 1912) cité par (Xiao et al., 2004). *C. parvum* diffère de l'espèce type, non seulement par sa localisation au niveau de l'intestin grêle plutôt que l'estomac, mais aussi parce que les oocystes étaient plus petits (Tyzzer, 1912) cité par (Upton et Current, 1985).

Après la découverte initiale de *Cryptosporidium*, plus de 50 ans se sont écoulés au cours de laquelle le parasite est couramment confondu avec d'autres genres apicomplexa, notamment des membres des *Sarcocystis* genre coccidies. Parce que beaucoup de *Sarcocystis* spp peuvent avoir des oocystes à paroi mince qui, souvent, se rompent, libérant des sporocystes libres, et parce que chaque sporocyste contient quatre sporozoïtes comme l'oocyste de *Cryptosporidium*, une variété d'espèces nommées et anonymes ont été attribuées par erreur au genre (Xiao et al., 2004a). Des études ultrastructurales suivantes, et grâce à l'étude du stade endogène du parasite, confirment la présence d'un organe d'attachement unique spécifique au *Cryptosporidium* (Hampton et Rosario, 1966).

La description de *Cryptosporidium meleagridis* chez les dindes en 1955 (Slavin, 1955) et l'identification des cryptosporidies chez les veaux diarrhéiques en 1971 (Panciera et al., 1971) ont fournies les premières indications que l'infection avec des espèces de *Cryptosporidium* pourrait être associée à la morbidité et à la mortalité.

Leur pathogénicité chez l'homme a été démontrée en 1976 avec le rapport des deux premiers cas du cryptosporidiose (Nime et al., 1976) et autre dans les années 80 par la prédominance et la conséquence des infections de *Cryptosporidium* dans les sujets immunodéprimés (Forgacs et al., 1983), particulièrement les personnes atteintes du SIDA.

Cryptosporidium parvum est maintenant reconnu comme pathogène d'importance médicale et vétérinaire (Tzipori 1983 ; O'Donoghue, 1995). C'est une cause importante de diarrhée chez le jeune bétail (de Graaf et al., 1999) spécialement les veaux.

Au cours des 15 dernières années, *Cryptosporidium parvum* a été identifié comme l'un des parasites opportunistes les plus communs et les plus dangereux (Guerrant, 1997) touchant les

enfants souffrant de malnutrition dans les pays en développement (Sallonet al., 1988 ; Agnew et al., 1988). Elle affecte 5 - 50% des malades du sida, selon la zone géographique (Casemore, 1990), le parasite représente toujours un problème majeur de santé publique, en raison de son haut potentiel opportuniste et son implication de plus en plus fréquente dans les épidémies d'origine hydrique (Fricker et Crabb, 1998 ; Smith et Rose, 1998), dont la plus importante a touché plusieurs centaines de milliers de personnes immunocompétentes (McKenzie et al, 1994).

Dans un premier temps l'analyse des isoenzymes, puis ultérieurement, les techniques diagnostics basées sur la polymérase chaîne réaction(PCR), ont fournis la preuve de la transmission d'homme à homme, et d'animal a homme de cryptosporidium ainsi que sa transmission hydrique (Awad-el-Kariem et al., 1995 ; Morgan et al., 1995).

L'introduction de séquençage de l'ADN a fourni les données pour identifier les variantes génétiques affectant même les mêmes espèces hôtes différentes ou. Il semblait logique de croire que les hôtes individuels ont chacun leur propre et unique hôte spécifique *Cryptosporidium* spp. Ainsi que des espèces qui sont moins spécifiques de l'hôte touchant un plus large spectre d'hôtes (Xiao et al., 2004b)

Les outils moléculaires fourni les techniques de diagnostic précis et le séquençage des gènes génèrent des données qui ont permis la construction de phylogénies moléculaires cartographie les relations évolutives entre les espèces individuelles et d'isolats. Tous ces efforts ont conduit à la réouverture de la question : «Est ce que le nombre d'espèces actuellement reconnues suffit, ou avons-nous besoin de définir plus (Slapeta, 2009)

2.3 Biologie Du Parasite :

2.3.1 Classification (Taxonomie) :

Tous les membres du genre *Cryptosporidium* sont des parasites intracellulaires. Ils sont eucaryotes protozoaires, ce qui signifie que la plupart de leur ADN est contenu dans un noyau entouré d'une double membrane, et ils sont des organismes unicellulaires. Le genre *Cryptosporidium* est l'un des plus de 300 genres qui comprennent 4800 espèces nommées dans le phylum Apicomplexa, mais il ya peut-être dix fois ce nombre des espèces encore à décrire. Tous sont des parasites, et certains sont des agents pathogènes importants, tels que les parasites du paludisme des humains et des animaux, piroplasme et coccidies (y compris *Isospora*, *Toxoplasma* et *Sarcocystis*) des humains, coccidies (principalement *Eimeria*) des

animaux domestiques et sauvages, et grégarines d'invertébrés. Plus de 150 espèces de mammifères, y compris les humains ainsi que des oiseaux, des reptiles, les amphibiens et les poissons sont parasités par les membres du genre *Cryptosporidium* (Fayer, 2008). La plupart des apicomplexans (sauf les eugregarines) ont un cycle de vie complexe composé de stades asexués et sexuelle représentés par la sporogonie. Des organites spécialisés trouvés dans les stades asexués invasifs mobiles comprennent les microtubules subpelliculaires, importants pour la locomotion, et un complexe apical composé d'anneaux apical, un micronemes, conoïdes, rhoptries et granules denses, importants pour l'invasion de la cellule hôte. Ces genres qui se développent dans le tractus gastro-intestinal des vertébrés et de passer à travers toutes les étapes de leur cycle de vie au sein d'un seul hôte comprennent *Eimeria*, *Isospora*, *Cyclospora*, et *Cryptosporidium*. Ceux-ci sont souvent appelés coccidies. Autre coccidies qui se développent dans le tractus gastro-intestinal des vertébrés et plus sont capables de ou exiger développement extra-intestinales sont appelés tissus formant des kystes coccidies. Il s'agit notamment de *Besnoitia*, *Caryospora*, *Frenkelia*, *Hammondia*, *Neospora*, *Sarcocystis*, et *Toxoplasma*. Sauf pour *Toxoplasma*, les membres de ce dernier groupe ont besoin de deux hôtes-un prédateur et une proie pour compléter le cycle de vie, et sont appelés parasites hétéroxènes obligatoires (Fayer, 2008).

Malgré de nombreuses caractéristiques morphologiques et du cycle de vie partagés par des espèces de *Cryptosporidium* et tous les coccidies ci-dessus, certaines analyses moléculaires ont suggéré une relation plus étroite entre les espèces et grégarines *Cryptosporidium* (Carreno, et al., 1999). Bien que l'analyse phylogénétique a placé les cryptosporidians avec les archigregarines sans cloison, il n'est pas possible de déterminer si elles ont évolué à partir ou sont sœurs au rang des grégarine (Leander et al., 2003).

Tableau 3 classification taxonomique de cryptosporidium (Levine, et Upton, 2000)

classification	nom	Cracteristiques biologiques
Empire	Eucaryotes	Les cellules ont des noyaux contenant la majeure partie de l'ADN de la cellule, entourée par une membrane double couche, presque tous ont des mitochondries
Royaume	Protozoa Goldfuss 1818	Principalement unicellulaire, la plupart ont des crêtes mitochondriales, appareil de Golgi, et peroxysomes
Phylum	Apicomplexa Levine, 1970	unicellulaires endosymbiotiques ou prédateurs avec le complexe apical généralement composées d'anneaux polaires, rhoptries, conoïdes, et généralement un micronemes ; les microtubules subpelliculaires et micropores commun.
Class	Coccidea Leuckart, 1879	Oocystes contient généralement des sporozoïtes infectieux qui résultent de sporogonie. Reproduction à la fois sexuée et asexuée. Locomotion par flexion, glissement, ou ondulation.
Ordre	Eucoccidiorida Leger and Duboscq, 1910	Mérogonie ; infecte les vertébrés et les invertébrés
Famille	Cryptosporidiidae Leger, 1911	Tous les développements intracellulaire, extracytoplasmique, avec organe de nutrition ; contient un seul genre, trouvé dans toutes les classes de vertébrés, des cycles de vie sont homoxenes; oocystes contiennent quatre sporozoïtes nus; après ingestion, les sporozoïtes sort par une fissure dans la paroi de l'oocyste; deux ou trois types de mérontes, la première génération peut-être capable de recyclage, les formes dernières microgamétocytes et macrogamètes; une fois fécondé, le zygote produit un oocyste; la sporogonie est endogène.

Genre	<i>Cryptosporidium</i> Tyzzer, 1910	Sporocyste absent ou unique avec oocyste de sorte que l'ensemble de l'organisme devient une spore unique avec quatre sporozoïtes
-------	--	--

2.3.2 Les exigences en matière d'identification des espèces :

Le genre *Cryptosporidium* est caractérisé par des caractéristiques morphologiques et biologiques spécifiques, mais la difficulté a surgi avec la caractérisation au niveau de l'espèce. Résultant, en partie parce que, classiquement, de nombreuses espèces de coccidies ont été identifiées et différenciées uniquement sur la base de leur morphologie des oocystes unique. Cette caractéristique n'est pas applicable dans le genre *Cryptosporidium* parce que les oocystes de nombreuses espèces manquent de caractéristiques uniques et sont indiscernables les uns des autres (Fayer, 2008) Car la morphologie des oocystes ne suffit pas pour caractériser une espèce de *Cryptosporidium*, d'autres facteurs distinctifs doivent être inclus dans la description taxonomique.

La méthode de dosage iso enzymatique a été utilisée, cependant cette méthode manquait de spécificité.

Plus récemment, le séquençage du gène est devenu le facteur le plus largement applicable pour la définition de nouvelles espèces. En plus il permet de spécifier des données spécifiques aux espèces uniques, l'exigence de quantités relativement petites d'oocystes, et un temps de traitement relativement rapide, Ces données génétiques ont été fondées principalement sur de légères différences dans la séquence des paires de bases dans le gène, dénommé 18S du ribosome ou gène de l'ARN de petite sous-unité (SSR). Les données de séquence 18s ont été inclus dans la définition de nouvelles espèces, y compris *C. andersoni*, *C. bovis*, *C. canis*, *C. galli*, *C. hominis* et *C. suis*. Données génétiques supplémentaires ont été fournies pour l'actine et HSP-70 gènes, entre autres (Fayer, 2008).

Au cours de la 6ème réunion « Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Disease » à l'institut Pasteur à Paris, en France, en 2002, une session intitulée « la Taxonomie du genre *Cryptosporidium* » a eu lieu. L'objectif de cette session était de réviser

les critères les plus couramment employés pour nommer les espèces de *Cryptosporidium*. Le consensus entre les chercheurs a été que, pour nommer des nouvelles espèces de *Cryptosporidium*, quatre conditions de base devaient être remplies (Certad, 2008).

1. Une étude morphométrique des oocystes (taille, forme, structure des différents stades de développement).
2. Une caractérisation génétique (analyses des séquences nucléotidiques de différents gènes).
3. L'étude du spectre des hôtes naturels et l'analyse de la spécificité d'hôte naturelle ou expérimentale lorsque cela est possible.
4. La conformité aux règles de l'« International code of zoological nomenclature» (Xiao, et al., 2004).

Cependant il est généralement difficile de définir une nouvelle espèce en se basant sur ces critères en même temps

Le tableau suivant donne les principales espèces actuellement validés de cryptosporidium :

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

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

NR : non rapporté **Tableau 4: liste des espèces de cryptosporidium reconnus comme valide (Certad, 2008)**

2.3.3 Cycle de vie :

Le site primaire de l'infection par *C. hominis* et *C. parvum* est l'intestin grêle. Chez certains animaux comme les souris et les veaux, l'iléon au-dessus de la jonction du caecum est le lieu privilégié pour *C. parvum*. Les cryptosporidiums ont été trouvés dans des sites extra-intestinaux chez les animaux (Fleta et al., 1995) et dans certains humains sévèrement immunodéprimés. D'autres espèces comme *C. muris*, *C. andersoni*, et *C. serpentis* préfèrent la

muqueuse gastrique. *cryptosporidium baileyi*, chez les poulets, favorise l'arbre respiratoire et le cloaque (Fayer, 2008).

2.3.3.1 Le Stade de l'environnement et source ultime de l'infection :

Les oocystes sporulés, constituent le stade exogène, elles sont excrétées par le corps d'un hôte infecté dans les fèces. Il se compose d'une paroi épaisse qui entoure et maintient la viabilité de quatre sporozoïtes internes dans des conditions environnementales défavorables. Ces sporozoïtes finalement sont la source de nouvelles infections.

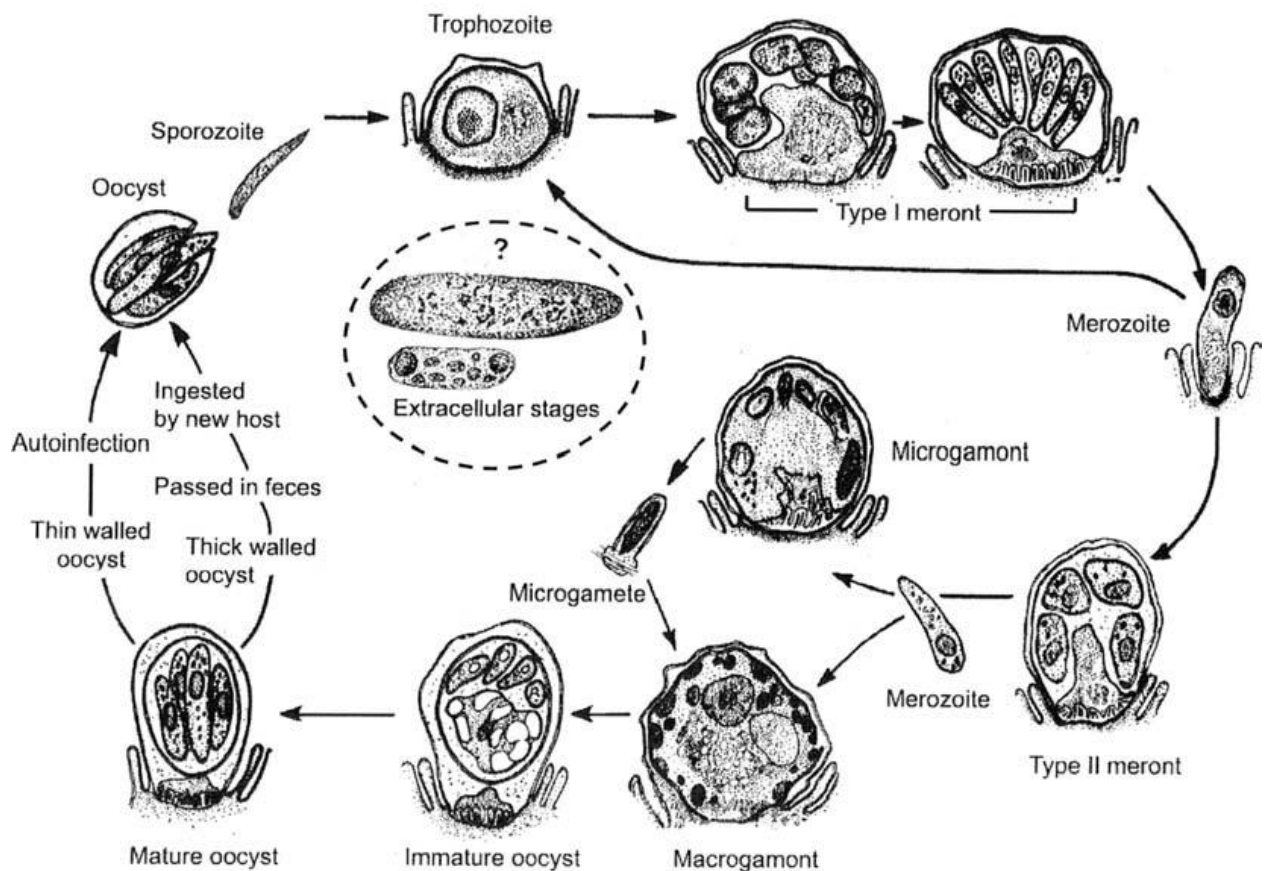


Figure 4 : représentation schématique du cycle de vie de *c.parvum* (Fayer, 1997)

2.3.3.2 Excystation :

Pour que le cycle parasitaire soit initié, l'hôte doit ingérer des oocystes infectants renfermant quatre sporozoïtes. Après l'ingestion, l'oocyste se excyste sous l'action de la trypsine et des sels biliaries bien que ces sels ne seraient pas indispensables, libérant ses 4 sporozoïtes, éléments infectants. L'exposition de l'oocyste aux sels biliaries, bien que pouvant favoriser

l'excystation, ne lui semble pas indispensable. L'excystement en absence de sels biliaries permettrait d'expliquer l'infection de sites extra-intestinaux comme le tractus respiratoire (Fayer et al., 1990).

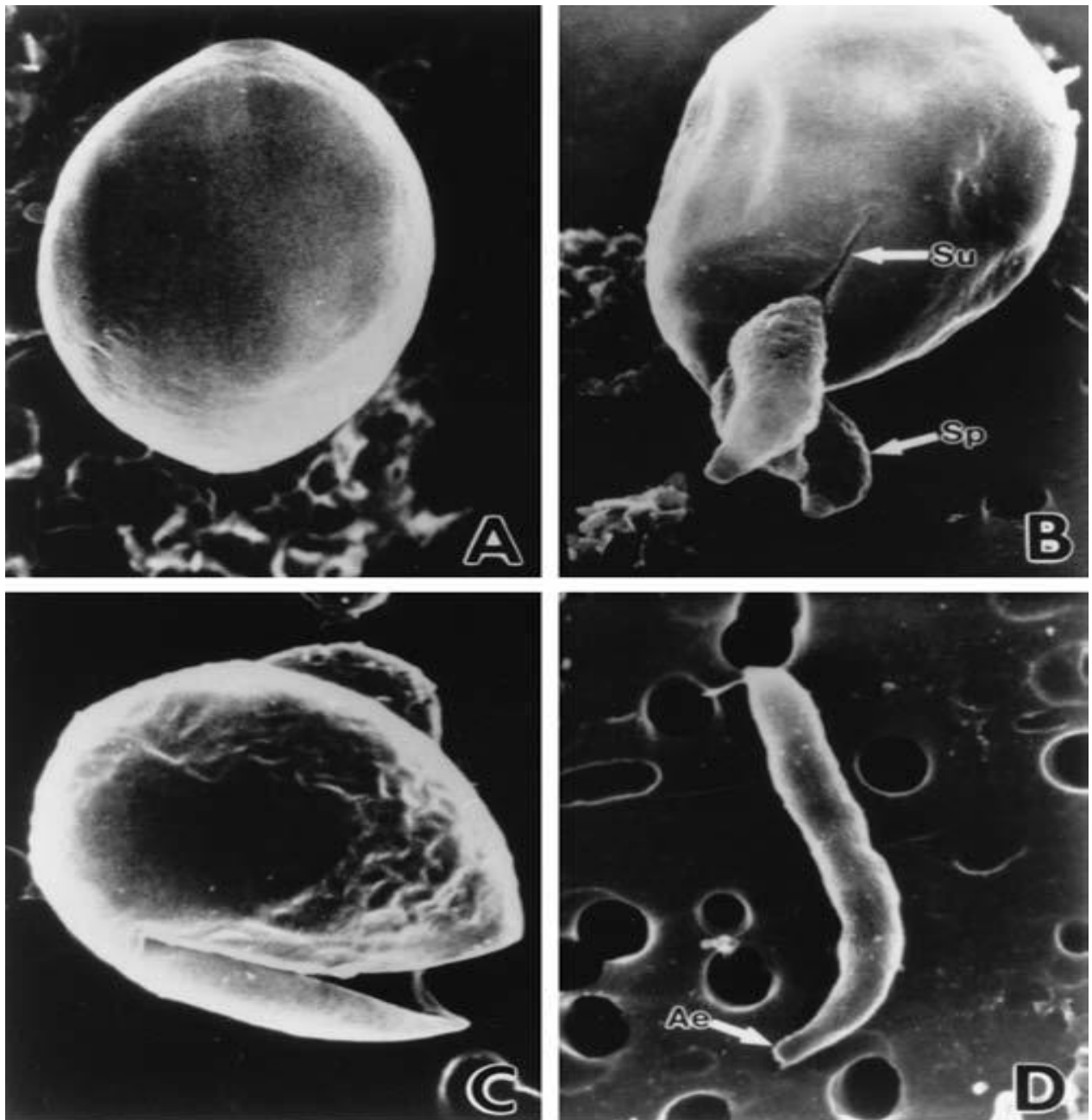


Figure 5 : microscopie électronique à balayage d'oocystes et de sporozoïtes après excystation (Fayer, 1997).

(A) des oocystes Intact avant excystation (Grossissement x 16.000). (B) Trois sporozoïtes libres après excystation (Sp) d'un oocystes simultanément via une fissure clivée (Su) (grossissement x16.000). (C) des oocystes vide (grossissement x 16.000). (D) sporozoïte libres ; Ae, extrémité apicale. (Grossissement x 14.000).

2.3.3.3 Invasion cellulaire et internalisation :

Les sporozoïtes qui excystent des oocystes sont mobiles, s'approchent d'une cellule hôte potentiel au niveau de l'extrémité antérieure (apicale) d'abord, et envahissent activement la cellule (Wetzel et al., 2005). Ils sont caractérisés par la présence d'organites sécrétoires qui exocytose au cours du processus d'invasion(Figure) (O'Hara et al., 2005). Lorsque le sporozoïte est initialement en contact avec la membrane de la cellule hôte, la rhoptries unique s'étend à l'emplacement de fixation, et les micronèmes et granules denses se déplacent vers la région apicale complexe (Huang et al., 2004). Les sporozoïtes et mérozoïtes de *C. parvum* expriment une glycoprotéine du complexe apical d'un poids moléculaire de 1300 kDa appelé CSL(circumsporozoïte -like) qui contient un ligand impliqué dans l'attachement aux cellules épithéliales de l'intestin au cours du processus de l'infection (Langer et Riggs, 1999).il a été démontrer que cette protéine(CSL) possède des récepteurs au niveau de l'épithélium de la cellule hôte (Langer et al., 2001).

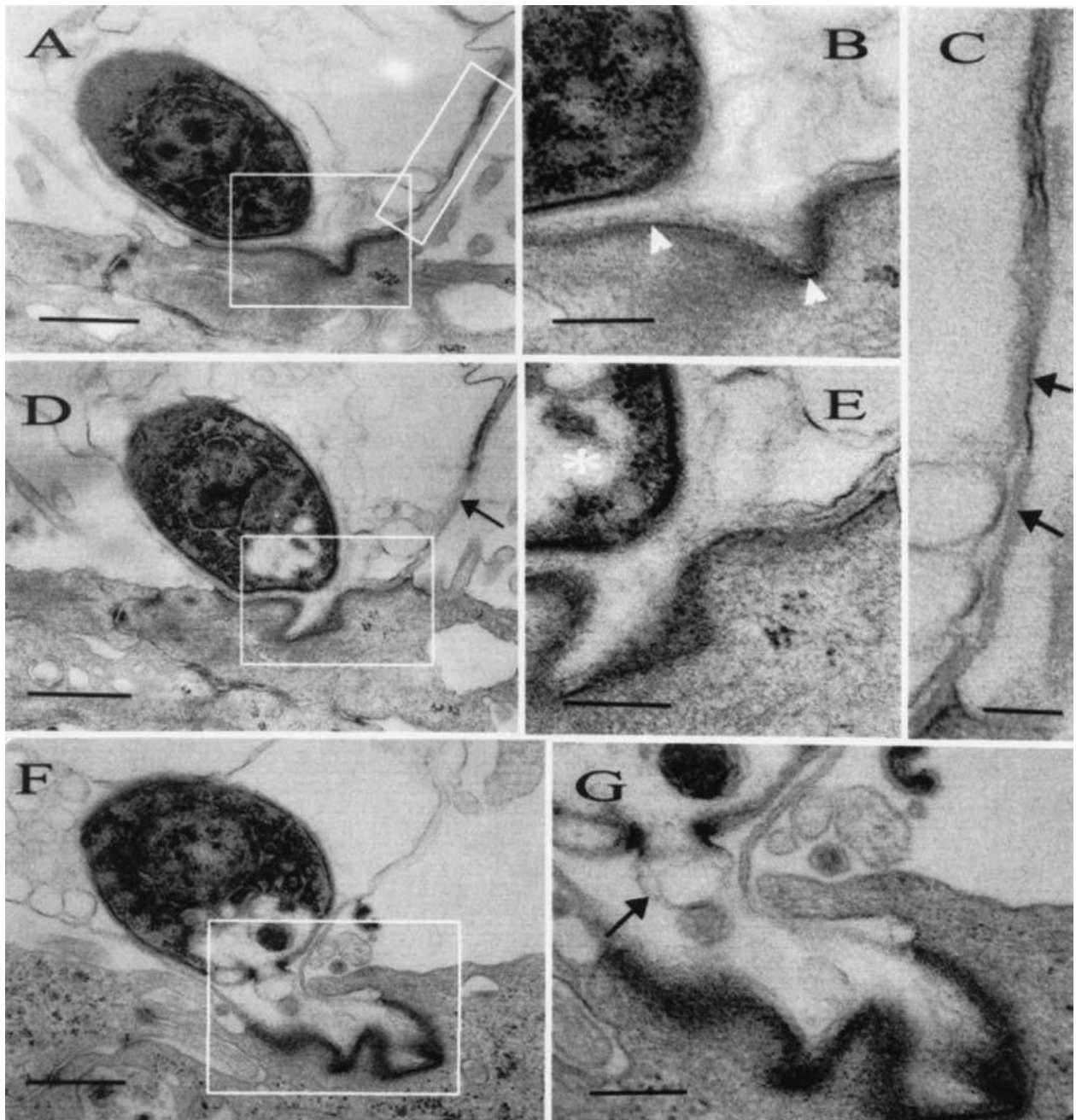


Figure 6 : microscopie électronique a transmission. Etapes initiales d'invasion cellulaire (Huang et al., 2004).

(A) et (D) sont des images périodiques d'un sporozoïte de *C. parvum* à côté d'une cellule de la vésicule biliaire humaine montrant la protrusion de la membrane. (B), (C), et (E) sont des agrandissements des zones encadrées de (A) et (D). Les flèches et les pointes de flèche en (C) et (D) montrent une bande dense à la base de la membrane de la cellule hôte où la vacuole parasitophore est en cours de formation à l'interface parasite- cellule hôte. L'ébauche de la vacuole avec ses structures apparaît au niveau du pôle apical du sporozoïte (E, l'astérisque). L'ébauche de la vacuole ainsi que ses structures envahissent la cellule hôte, cela est montré en plus fort grossissement en (G).

Les sporozoïtes attachés, initialement minces et en forme de croissant, vont devenir ovales ou sphériques par la suite. Des vacuoles secondaires (probablement formées par le parasite) apparaissent au niveau du pôle apical puis fusionnent en entourant le parasite pour former la prévacuole parasitophore. (Huang et al., 2004). Cet espace vacuolaire fusionne avec la membrane cellulaire de la cellule hôte pour former une interface cellule- parasite. Une bande mince (formée par les prolongements des cellules des microvillosités) vient entourer le parasite, donnant naissance à la vacuole parasitophore mure (Umehiya et al., 2005). Logés dans la vacuole parasitophore ainsi formée, ils acquièrent une position atypique : intracellulaire et extra-cytoplasmique. Ce stade parasitaire internalisé est appelé trophozoïte.

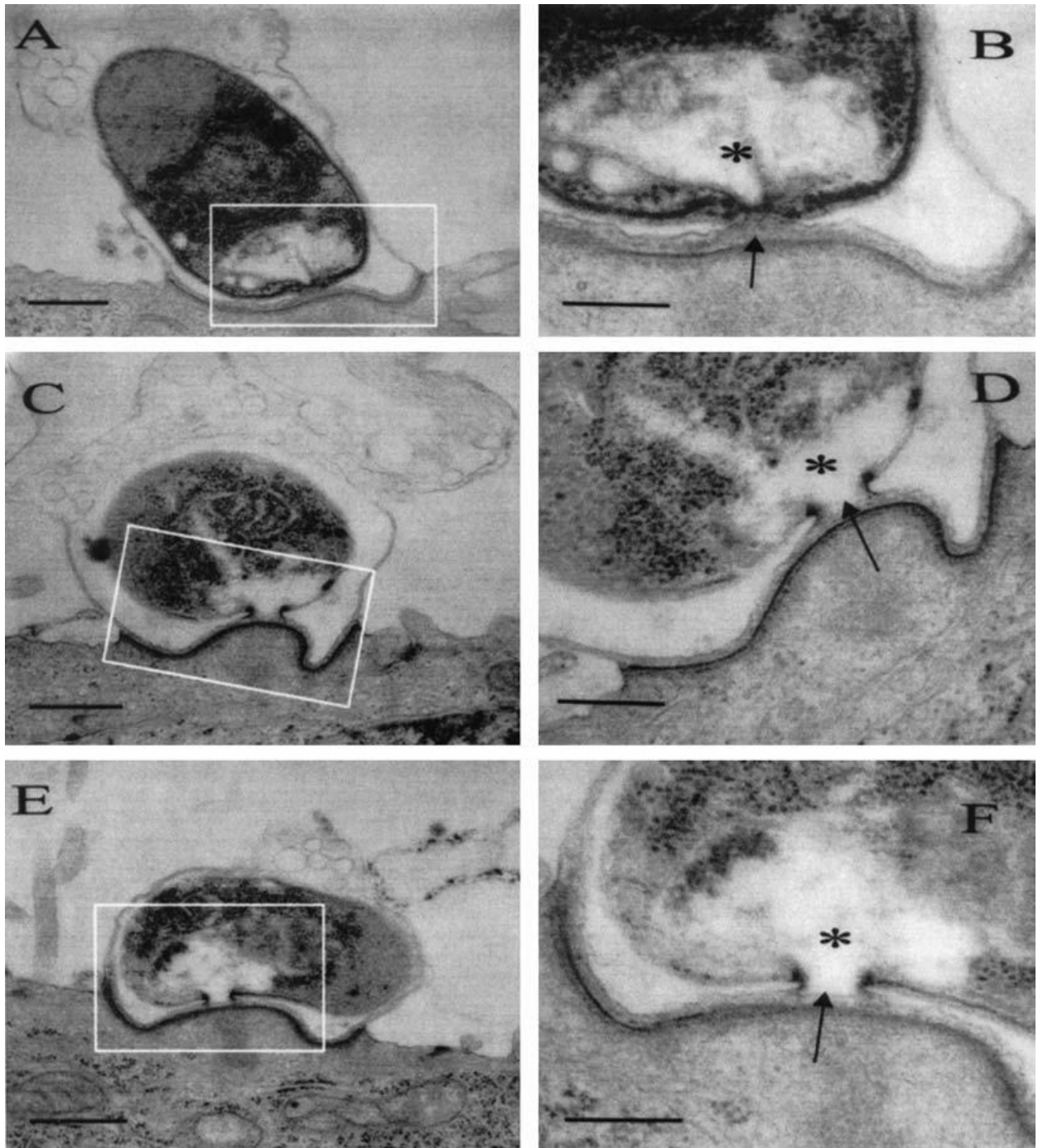


Figure 7: microscopie électronique a transmission. Stade d'intériorisation' du sporozoïte (Huang, et al., 2004)

(A), (C), et (E) sont des images périodiques du sporozoïte de *C. parvum* devenant sphérique et internalisé dans une cellule épithéliale du conduit biliaire humaine. La membrane de la prevacuole parasitophore s'étendant à partir de la cellule hôte semble se déplacer postérieurement au sporozoïte bien que la membrane de la cellule hôte fait saillie et fusionne avec elle. (B), (D) et (F) sont des grossissements supérieurs des zones encadrées de ((A), (C) et (E), respectivement. Un tunnel (flèches) au niveau du site d'origine de fixation relie la région apicale du complexe vacuolaire (astérisques) du sporozoïte avec le cytoplasme de la cellule hôte

Les sporozoïtes au sein de la vacuole parasitophore sont intracellulaires, mais ne sont pas directement en contact avec le cytoplasme de la cellule hôte-ils sont extracytoplasmique. Également au cours de cette période, les structures vacuolaires à l'extrémité apicale du sporozoïte semblent être directement connectées au cytoplasme de la cellule hôte. À la fois une bande dense aux électrons sous ce site et la vacuole parasitophore gardent le parasite intracellulaire mais extracytoplasmique. Le groupe dense aux électrons mûrit ensuite dans une structure unique appelée organe d'attachement ou organe de nutrition. Au fur et à mesure que ce processus d'internalisation progresse, le sporozoïte est sphérique et est appelé un trophozoïte. En culture cellulaire, l'attachement et l'internalisation sont achevés en 15 min (Lumb et al., 1988).

2.3.3.4 Cycles de reproduction :

Le cycle de développement comporte deux mérogonies ou schizogonies ou multiplications asexuées, suivies de la gamétogonie. Le trophozoïte donne naissance à un merozoïte de type I contenant huit cellules filles ou mérozoïtes de type I. Ces huit mérozoïtes de 1ère génération vont infecter les cellules voisines et auront alors deux destins possibles : soit donner naissance à de nouveaux merozoïtes de type I (recyclage), soit initier une mérogonie de 2ème génération ou type II (qui donnera des mérozoïtes de type II). Ces derniers, qui sont 4 par merozoïte II, initient la reproduction sexuée ou gamétogonie. Pour cela, ils se différencient soit en microgamonte mâle, soit en macrogamonte femelle. Les microgamontes deviennent multinucléés, chaque noyau étant ensuite incorporé dans un microgamète. Les macrogamontes demeurent uninucléés en devenant de macrogamètes. La fécondation a lieu suite à l'union des macrogamètes et des microgamètes. Celle-ci aboutit à la formation de zygotes qui deviennent des oocystes. Ces derniers sont émis sporulés dans la lumière intestinale, rejetés avec les fèces dans le milieu extérieur et sont directement infectants pour un autre hôte sensible. Les particularités du cycle de *Cryptosporidium* par rapport à celui des autres coccidies consistent en l'excrétion d'oocystes directement infectants, le recyclage des mérozoïtes de 1ère génération et la formation d'oocystes à paroi fine (20%) qui desenkystent immédiatement *in situ* (non éliminés avec les selles), entretenant l'infection. Ces particularités expliqueraient le maintien de l'infection chez les sujets immunodéprimés.

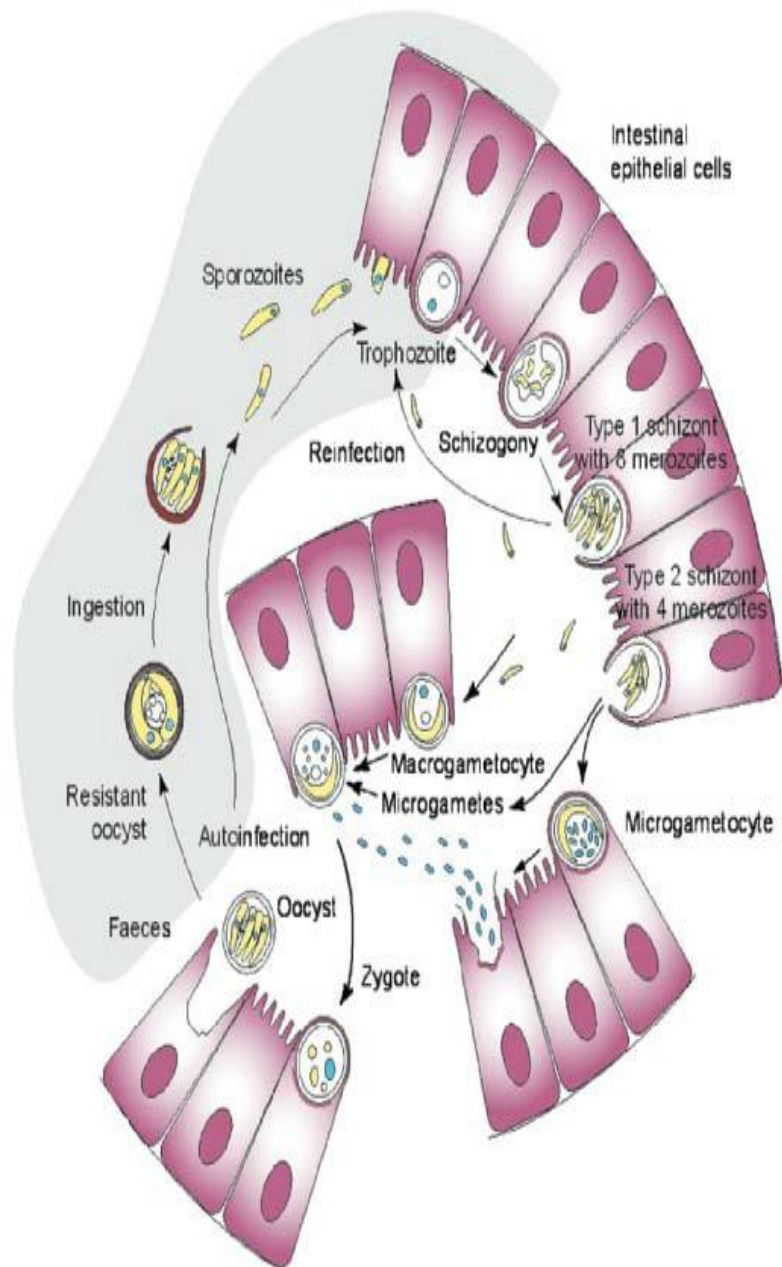


Figure 8: cycle biologique de *Cryptosporidium*. Spp (Smith et al., 2007)

2.4 Pouvoir pathogène du genre *Cryptosporidium* :

L'infection à *C. parvum* chez les jeunes veaux conduit à l'atrophie des villosités et une réduction totale de la surface d'absorption de la muqueuse intestinale résultant de la perte accélérée des entérocytes mature, l'atrophie des microvillosités et l'augmentation de la perméabilité intestinale (Klein et al., 2008 ; Foster et Smith, 2009). Ces lésions entraînent une diarrhée de malabsorption (Foster et Smith, 2009).

Quand le sodium est couplé au glucose ou la glutamine, l'absorption du sodium et de l'eau dans le compartiment des cryptes peut être compensé au cours de l'infection, mais cette absorption reste limitée, l'absorption nette de toutes les principales catégories de nutriments est réduite, ce qui conduit à une diarrhée de malabsorption (Cole et al., 2003 ; Klein et al., 2008). En plus de la malabsorption, l'augmentation de la synthèse de la prostaglandine muqueuse (PGI_2 , PGE_2) médiateur de la sécrétion du Cl^- et HCO_3^- et l'inhibition de l'absorption de NaCl par les microvillosités. (Gookin et al., 2002 ; Foster et Smith, 2009). Ces perturbations ioniques contribuent à la diarrhée et perte de fluide dans la cryptosporidiose, avec la PGE_2 agissant directement sur les entérocytes et PGI_2 agissant par l'intermédiaire du système nerveux entérique (Foster et Smith, 2009 ; Gookin et al., 2002). En outre, des études chez les macaques et les souris immunodéprimées ont montré que le neuropeptide P est élevé dans le jéjunum pendant l'infection par *C. parvum* et contribue à l'atrophie des villosités, et la malabsorption du Cl^- et du glucose (Robinson et al., 2008). Le rôle de ce neuropeptide dans la physiopathologie de la cryptosporidiose bovine n'a pas encore été élucidé.

L'action cytotoxique directe peut conduire à la perte des entérocytes et une atrophie des villosités avec plusieurs enteropathogènes, mais on ne pense pas qu'elle puisse jouer un rôle important avec l'infection à *C. parvum* chez les veaux (Foster et Smith, 2009). Des études *in vitro* ont montré clairement que l'apoptose de la cellule hôte est modulée au cours de l'infection par *C. parvum* et que l'induction de l'apoptose est finalement impliqué dans la perte des entérocytes dans une certaine mesure, mais est limitée à une sous-population de 15% à 20% des cellules infectées (Mele et al., 2004 ; Liu et al., 2009). Cependant, les rôles relatifs de l'apoptose dans les défenses de l'hôte, par la promotion de clairance des cellules épithéliales infectées, limite la propagation de l'infection chez un hôte donné et ainsi réduits les maladies, contre la survie du parasite en favorisant l'infection, la propagation et l'achèvement du cycle de vie, sont compliquées et pas encore clairement défini. Les études ont démontré que *C. parvum* rend la cellule hôte réfractaires à l'apoptose en phase précoce de l'infection, durant le

développement du trophozoïte et du méronte, et soutient l'argument que l'inhibition de l'apoptose précoce favorise la réussite de la propagation et l'achèvement du cycle de vie du parasite (Foster et Smith, 2009 ; Liu et al., 2009). Pendant les premiers stades de l'infection et le développement du trophozoïte (6-12 heures après l'infection) l'expression du gène anti-apoptotique est régulée à la hausse et l'expression des gènes pro-apoptotique était réprimé, en revanche, durant les derniers stades de l'infection (24-72 heures après l'infection) un changement a été observé. L'expression du gène anti-apoptotique a été réprimée et l'expression des gènes pro-apoptotique est régulée à la hausse (Liu et al., 2009). Bien que plusieurs centaines de gènes de la cellule hôte ont été réglementés durant l'infection par *C. parvum*, l'expression d'un sous-ensemble de gènes impliqués dans l'apoptose temporairement en parallèle des modifications morphologiques indicatives de l'apoptose dans jusqu'à environ 20% des cellules infectées par environ 24 à 48 heures après l'infection, le temps à qui mérozoïtes première rupture et de commencer l'évacuation des cellules hôtes. L'apoptose a été signalé comme étant pratiquement absent dans les cellules infectées au cours du début de développement du trophozoïte, jusqu'à environ 12 heures après l'infection (Liu et al., 2009). Ces observations sont cohérentes avec les études antérieures indiquant que la mort de la cellule hôte suite à la réplication de *C. parvum* et la sortie des mérozoïtes ultérieurement se produit principalement par des mécanismes non-apoptotiques (Elliott et Clark , 2003). De la pertinence de la physiopathologie de la diarrhée, la mort des entérocytes conduisant à une atrophie des villosités se produit par la nécrose, et non l'apoptose, résultant d'un défaut dans la membrane plasmique de la cellule hôte et la perte de l'intégrité physique causée par la sortie de *C. parvum* de la cellule infectée (Elliott et Clark , 2003 ; Foster et Smith , 2009).

2.5 Symptômes et lésions :

2.5.1 Chez les bovins :

Le genre *Cryptosporidium* a été décrit chez les bovins en 1970, pour la première fois et ce n'est qu'en 1980 que son rôle pathogène a été prouvé. C'est le groupe d'espèces parmi les Mammifères le plus concerné par la cryptosporidiose avec l'espèce humaine.

(Fayer et al., 2000 ; Lindsay et al., 2000), rapportent que l'espèce rencontrée dans la caillette chez les bovins, est différente de *C. parvum* et proposent donc *C. andersoni* comme nom à cette nouvelle espèce. Cette espèce est peu fréquente et ne provoque pas de pathologie, *C. muris* est plus rencontré chez les adultes ou il est responsable d'une chute de production laitière.

C.parvum a été incriminé dans la plus grande majorité des cas cliniques de cryptosporidiose chez les ruminants.

2.5.1.1 Symptômes :

C'est essentiellement chez les animaux nouveau-nés, que la maladie s'exprime cliniquement. La diarrhée aqueuse profuse, constitue la principale manifestation clinique, de Couleur jaune pâle et ayant une odeur désagréable (O'Donoghue , 1995). Une phase d'abattement et d'anorexie, précède cette étape. L'excrétion d'oocystes caractérise cette diarrhée. Elle débute 3 à 5 jours après l'infection (De Graaf et al.,1999). Chez les veaux, on observe une grande variabilité dans la durée et l'intensité de cette diarrhée. Ainsi, en réduisant expérimentalement l'influence des facteurs extérieurs, en utilisant une souche unique de *Cryptosporidium parvum*, un même nombre d'oocystes inoculés, avec des veaux du même âge, provenant du même élevage... la diarrhée dure selon les individus de 4 à 17 jours. La sévérité de la diarrhée varie aussi grandement allant de bouses peu formées à une diarrhée aqueuse pratiquement translucide. Cette grande variabilité dans l'expression clinique, même dans des conditions identiques, s'explique par une variabilité de la réponse individuelle de l'hôte face à la cryptosporidiose. Ceci suggère l'importance du statut immunitaire de l'hôte dans la résistance à cette maladie.

D'autres signes cliniques non spécifiques s'observent comme de l'anorexie, de la déshydratation consécutive à la diarrhée, une perte de poids et une baisse de l'état général avec abattement, poil piqué, hyperthermie. Cela se traduit par un retard de croissance pendant les premiers jours de vie de l'animal. Pratiquement tous les animaux souffrent de diarrhée mais la plupart se rétablissent en une à deux semaines. En général, ils n'ont pas besoin de traitement et les pertes ne dépassent pas 2 % du troupeau (Anderson, 1998). Ces pertes peuvent être plus lourdes (jusqu'à 30 % de mortalité) surtout lors d'hivers rigoureux et lorsque la maladie coïncide avec une infection à rotavirus ou coronavirus (Naciri, 1994).

2.5.1.2 Modèle expérimental d'infection :

Expérimentalement, lorsqu'on fait ingérer à des veaux âgés de 1 à 3 jours une suspension contenant 1,5 million d'oocystes (Fayer et al., 1998), la période prépatente est courte et varie de 3 à 6 jours. La période patente ou durée totale d'excrétion s'étend de 6 à 9 jours mais certains animaux peuvent doubler la durée de leur période d'excrétion. Plus cette infection est précoce dans la vie de l'animal, plus la période prépatente sera courte et plus la durée totale de

l'excrétion sera longue (Naciri, 1994). L'excrétion atteint son pic d'intensité entre le 6ème et le 8ème jours après l'infection.

Les signes cliniques commencent par une perte d'appétit puis une diarrhée aqueuse qui débute au 4ème jour après infection. Elle peut durer de 4 à 17 jours et généralement, lors d'infection expérimentale, 10 à 20 % des individus ne sont pas atteints.

Le nombre d'oocystes excrétés varie selon les auteurs et la méthode de diagnostic utilisée. Dans les conditions expérimentales, l'excrétion d'oocystes varie de 2×10^5 à 4×10^7 oocystes/gramme de fèces selon les quantités d'oocystes inoculées au départ et la période d'excrétion (Fayer et al., 1998). Dans les conditions naturelles, l'excrétion totale sur toute la période de la maladie peut atteindre 2.5×10^{10} oocystes (Atwill et al., 1998).

2.5.1.3 Lésions :

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

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

2.5.2 Chez l'homme :

L'eau contaminée constitue la principale source d'infection de *Cryptosporidium* pour les humains. Plusieurs épidémies d'origine hydrique de cryptosporidiose ont été signalées impliquant l'eau potable et des eaux de surface contaminées (CDC, 2001). L'épidémie d'origine hydrique humaine la plus sévère et la plus importante survenue à Milwaukee en 1993, où plus de 400.000 personnes ont été infectées (MacKenzie et al., 1995).

La cryptosporidiose chez l'homme se manifeste généralement comme une maladie spontanément résolutive avec une durée médiane de 9-15 jours, ce qui entraîne une récupération totale chez les individus sains. Le principal symptôme est la diarrhée aqueuse

associée à des crampes abdominales, anorexie, perte de poids, des nausées, des vomissements, de la fatigue et de la faible fièvre (Marshall et Lamont, 1997).

Les symptômes sont similaires chez les enfants et les adultes, bien que la cryptosporidiose acquis durant l'enfance puisse avoir des effets permanents sur la croissance et le développement (Molbak et al., 1997). Cependant, il est chez l'hôte immunodéprimé (en raison d'une variété de causes, y compris mais ne se limite pas à l'infection par le VIH et le sida, la drogue, la transplantation d'organes, la chimiothérapie du cancer, etc.) (Farthing, 2000). Que les infections sont plus chroniques et débilitantes. Les patients peuvent avoir des diarrhées chroniques qui peuvent durer plus de 2 mois, excréant les oocystes dans les selles pendant toute la période, contribuant à une déshydratation sévère, la perte de poids et la malnutrition, les hospitalisations prolongées, et la mortalité (Farthing, 2000). Ainsi, la sévérité et la durée de la maladie dépend de l'état immunitaire de l'hôte. Les groupes impliqués avec des risques plus élevés d'infection sont les enfants et le personnel des centres de soins, les agriculteurs, les préposés aux animaux, et les travailleurs de la santé. Les voyageurs sont à risque quand ils voyagent des pays développés vers les pays en développement à forte prévalence de la maladie (Norma et al., 2004).

2.6 Epidémiologie :

2.6.1 Chez les bovins :

2.6.1.1 Population atteinte :

L'infection par des parasites du genre *Cryptosporidium* a été décrite chez 79 espèces de mammifères, 30 espèces d'oiseaux, 57 espèces de reptiles et 9 espèces de poissons (O'Donoghue, 1995). Ce très grand nombre d'espèces différentes montre la très faible spécificité d'hôte du genre *Cryptosporidium*.

Chez les mammifères, l'infection a été décrite chez des espèces domestiques et sauvages (dans leur milieu naturel ou en captivité). Les jeunes animaux sont plus fréquemment atteints chez les Mammifères et les Oiseaux. Chez les serpents, l'infection concerne davantage les animaux adultes.

2.6.1.2 Prévalence :

La prévalence représente le pourcentage d'animaux infectés par *Cryptosporidium parvum* dans une population donnée à un instant donné. Cette estimation peut varier en fonction de la population de départ, de son âge, de ses conditions de vie, des techniques de détection des

individus atteints ou bien encore du lieu de l'étude. Il est donc difficile de donner un chiffre brut pour évaluer la prévalence de la maladie chez les ruminants. Plutôt que de prévalence de la maladie, il vaut mieux parler de prévalence d'excrétion car la plupart des études se basent sur la mesure du nombre d'animaux excréteurs indépendamment de leur statut clinique et non pas sur le nombre d'animaux malades. Cette prévalence d'excrétion varie de 10 à 90 %.

2.6.1.2.1 Variation en fonction de l'âge :

La cryptosporidiose est une maladie du jeune. C'est entre 6 et 15 jours d'âge que l'on a le plus grand nombre d'animaux excréteurs d'oocystes (76,7 %). Seuls les animaux avant le sevrage ont des signes cliniques de diarrhée. L'âge était le facteur de risque d'excrétion le plus significatif : ainsi, la probabilité d'excréter est 41 fois plus grande dans une population de veaux de 2 mois que dans une population de veaux de plus de 4 mois (Atwill et al., 1998).

Tableau 5: comparaison de la prévalence de la cryptosporidiose en fonction du type d'élevage en France (Naciri et al., 1999)

	AGE	CONDITIONS	PREVALENCE
Elevage allaitant	4 à 10 jours	En contact avec leurs mères, nourris par la mère, pas de diarrhée ou diarrhée depuis moins de 24 heures, bon état général au jour de l'inclusion.	50 % à J0 86 % à J7 28 % à J14
Elevage Laitier	8 à 15 jours	En box individuels, permettant un contact nez à nez, nourris au lait artificiel, pas de diarrhée ou diarrhée depuis moins de 24 heures, bon état général au jour de l'inclusion	16,8 % à J0 52 % à J7 32 % à J14

2.6.1.2.2 Variation en fonction du type d'élevage :

Chez les bovins, on observe des différences de prévalence en fonction des conditions d'élevage des veaux. Dans l'étude suivante, les veaux proviennent d'élevages de races à viande ou d'élevages de races laitières. L'âge indiqué est l'âge au jour d'inclusion dans l'étude soit J0. Le nombre de veaux contaminés par *Cryptosporidium parvum* est indiqué en pourcentage au 1er jour de l'étude, au 7ème et au 14ème jour.

Dans les deux groupes, c'est au 7ème jour de l'étude que le pic d'excrétion est atteint. C'est dans les ateliers d'engraissement et les élevages allaitants que la prévalence de la cryptosporidiose est la plus élevée. Les veaux sont élevés sous la mère et la transmission est facilitée par les nombreux contacts entre animaux : d'un veau à l'autre directement quand les animaux sont en stabulation libre ou d'une mère à son veau par des pis souillés, par des fèces contaminés par exemple. L'infection peut se faire par la mamelle (Naciri, 1994). Dans les élevages laitiers, les veaux sont très peu en contact avec leurs mères et avec les autres veaux ; ainsi, le risque de contamination est réduit. Dans les unités d'engraissement, le mélange d'animaux qui transitent entre élevages et marchés fait grimper le taux de prévalence qui atteint quasiment les 100 % (De Graaf et al., 1999). En vérité l'augmentation de la prévalence n'est pas du seulement au type d'élevage, c'est le résultat d'élever des animaux d'âge et de statut immunitaire différents au contact direct les uns des autres. De plus vu que le colostrum n'apporte aucune protection contre le parasite, les veaux restants sous la mère ne bénéficient d'aucune protection supplémentaire.

Une différence entre les veaux de race laitière chez qui l'excrétion est précoce et groupée et les veaux de race à viande chez qui l'excrétion s'étale dans le temps et sur des individus d'âge différents. Ceci est en faveur d'une exposition dès la naissance à un réservoir suffisamment conséquent pour contaminer tous les veaux simultanément dans le 1er groupe et d'une contamination d'un veau à l'autre dans le 2ème groupe (Anderson, 1998).

2.6.1.2.3 Variation en fonction du statut clinique :

Le nombre d'individus infectés par *Cryptosporidium parvum* est plus élevé au sein d'une population diarrhéique. Comme le montre le tableau suivant, la prévalence d'excrétion est plus élevée chez des animaux ayant des symptômes cliniques de diarrhée

ORIGINE	CLINIQUE	PREVALENCE
Veaux laitiers	5,2 % ont des signes de diarrhée	17,9 %
Mélange de veaux d'origine laitière et bouchère	90,5 % présentent de la diarrhée (la moitié depuis plus de 24 heures et avec signes de déshydratation)	43,4 %

Tableau 6 prévalence de cryptosporidiose en fonction du statut clinique (Lefay et al., 2000)

2.6.1.2.4 Variation en fonction du pays :

Selon les pays l'estimation de la prévalence est variable ; ainsi, 39 % des veaux sont contaminés en Hollande, 44 % en Allemagne, 82,7 % en Espagne (Fayer et al., 1998).

En France, on trouve des veaux excréant le parasite dans toutes les régions d'élevages (Lefay et al., 2000). Aux Etats-Unis, une grande proportion des troupeaux laitiers est infectée, et 10 à 60 % des veaux excrètent *Cryptosporidium parvum* (Atwill et al., 1998). En californie, on note des prévalences beaucoup plus basses que celles rencontrées en Europe ou au Canada : une faible densité animale, la sensibilité des oocystes à la dessiccation et la faible pluviosité de la région permettent d'expliquer ces résultats (Atwill et al., 1999).

2.6.1.2.5 Autres facteurs de variation :

De nombreux facteurs font varier l'estimation de la prévalence de la cryptosporidiose. Ainsi, dans la catégorie d'animaux les plus atteints que sont les veaux avant le sevrage, lorsque l'on réalise deux analyses par semaine, dès 3 jours d'âge, pendant un mois, on a une prévalence de 93 %. Quand on ne réalise qu'une ou deux analyses pendant toute la période de présevrage, la prévalence n'est plus que de 22 % (Fayer et al., 1998). L'excrétion des oocystes étant intermittente, un faible nombre de mesures pendant la période de présevrage conduit forcément à une sous estimation de la prévalence (Lefay et al., 2000).

2.6.2 Epidémiologie analytique :

2.6.2.1 Sources :

La principale source est constituée par les matières fécales disséminées dans le milieu extérieur, bien que les sources potentielles soient multiples et pas toutes connues d'où la difficulté de lutter contre le parasite.

2.6.2.1.1 Les jeunes animaux du troupeau :

Les fèces des autres animaux de l'élevage constituent la principale source de contamination : en premier lieux, les nouveaux nés. Les premières semaines de vie représente la phase où l'excrétion d'oocystes est massive, et le milieu est très vite fortement contaminé. Un nouveau-né se contamine plus facilement à partir des fèces de ses voisins du même âge. La densité animale élevée et où les contacts entre animaux nombreux, constituent des facteurs qui aggravent cette contamination.

A la fin de la saison de vêlage, la contamination du milieu est très importante.

2.6.2.1.2 Les mères :

Les mères représentent une source insidieuse, bien que leur importance est sujette à controverse, en l'absence de symptômes elles peuvent excréter le parasite.

Cette excrétion a été quantifiée : en Europe, 60 à 70 % des adultes sont excréteurs et bien que le niveau d'excrétion soit faible, il est suffisant pour contaminer un nouveau-né (Atwill et al., 1998). une vache rejette 900 oocystes par gramme de fèces et 30 à 40 kg de fèces par jour (Naciri et al., 1999). soit un nombre d'oocystes excrétés par jour de l'ordre de $2 \text{ à } 3 \times 10^7$ par adulte. Or, une centaine d'oocystes suffisent pour infecter un veau donc les adultes peuvent être à l'origine de la contamination des jeunes.

Dans une étude américaine, on a essayé de savoir le rôle de la mère dans la contamination des veaux. Ses résultats sont en contradiction avec ceux obtenus en Europe : bien que 92 % des veaux âgés de 7 à 21 jours soient infectés, aucune des mères n'excrète d'oocystes de *Cryptosporidium parvum* autour du vêlage (± 21 jours autour de la mise-bas). Cependant, la méthode de détection utilisée par l'auteur (immunofluorescence directe) n'est probablement pas assez sensible pour mettre en évidence l'excrétion des mères (Atwill et al., 1998).

une étude épidémiologique donne des résultats assez différents. L'excrétion d'oocystes est étudiée sur plus de 500 adultes bovins en bonne santé, âgés de plus de 1 an et appartenant à deux troupeaux différents, en Écosse ; Les résultats sont rassemblés dans le tableau 8. L'excrétion des jeunes n'est pas prise en compte (Scott et al., 1995)

	Conditions	Conditions Prévalence d'excrétion
Troupeau 1	Diarrhée cryptosporidique diagnostiquée chez plus de 80 % des veaux durant les 5 dernières années	61.3 %
Troupeau 2	Pas d'antécédents récents de cryptosporidiose	66.4 %

Tableau 7 : Excrétion d'oocystes de *Cryptosporidium* selon (Scott et al., 1995)

Cet exemple montre un très haut niveau d'excrétion chez les adultes puisque la prévalence moyenne d'excrétion est de 62,4 %. Cette prévalence est encore plus élevée si on augmente la sensibilité de la technique par concentration. Des études sérologiques de recherche d'anticorps spécifiques sur ces animaux montrent un très fort taux de contact avec l'antigène *Cryptosporidium parvum* puisque plus de 90 % des animaux sont séropositifs et ce quel que soit le type d'immunoglobulines recherchées (IgG, IgG1, IgG2, IgM).

Le rôle des mères en tant que réservoir du parasite est évident lorsque les techniques de détection utilisées sont assez sensibles. Il n'y a pas de différence notable de prévalence chez les ruminants adultes entre le troupeau où les veaux sont malades et celui où ils ne le sont pas. Ceci prouve que la présence des adultes n'est pas indispensable au développement de la maladie clinique chez les jeunes.

L'excrétion quasi-systématique et asymptomatique des adultes doit contribuer à la pérennisation de l'infection d'une année sur l'autre en permettant la contamination des jeunes en début de saison de mise-bas quand le milieu est encore peu contaminé. Ce portage contribue également à la contamination de l'environnement et particulièrement des eaux de manière insidieuse et continue.

2.6.2.1.3 Animaux sauvages, rongeurs.... :

On ne connaît pas très bien le rôle joué par la faune sauvage (rongeurs, cervidés...) dans la contamination des autres animaux. Elle est sans doute minime face à l'importante source que représentent les fèces des ruminants, jeunes ou adultes, dans la contamination d'un élevage par exemple.

Etant donné que l'espèce *C. parvum* qui infecte le bétail est très largement répandue et ne présente pas une grande spécificité d'hôte, tous les animaux porteurs de ce parasite peuvent théoriquement être à l'origine d'une contamination d'un élevage. De tels cas ne sont pas décrits car il est impossible de connaître la source exacte d'une contamination : le parasite impliqué chez les deux espèces est en général identique.

2.6.2.1.4 Eau :

De très nombreux cas sont décrits chez l'homme de cryptosporidiose d'origine hydrique. Ces cas concernent un grand nombre de personnes et la contamination de l'eau est due à une erreur dans le traitement de l'eau du robinet ou à un déversement accidentel de déchets animaux ou d'eaux d'égouts dans le circuit d'eau potable. On peut très bien imaginer qu'une telle eau alimentant un élevage puisse conduire à la contamination d'animaux mais on ne connaît pas l'importance de cette voie de contamination.

Un exemple original de contamination par l'eau, aux Etats-Unis : les oocystes contenus dans l'eau sont déposés sur les murs et le sol des bâtiments de l'élevage lors du lavage sous pression de ces bâtiments. C'est un aérosol d'eau contaminée qui a servi au nettoyage ; l'eau a

été contaminée en passant sous les bâtiments des veaux âgés, avant de servir à la désinfection des boxes des plus jeunes (Atwill et al., 1998).

2.6.2.2 Facteurs de réceptivité et de sensibilité :

2.6.2.2.1 Espèce :

La cryptosporidiose se rencontre chez de nombreux animaux domestiques et sauvages (rongeurs, cervidés...). Tous les ruminants peuvent héberger et excréter des oocystes. Parmi les ruminants qui représentent le plus grand groupe d'espèces concernées par la cryptosporidiose, le chevreau est le plus sensible à l'infection par *C. parvum*.

2.6.2.2.2 Race :

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. Chez les adultes, la maladie est généralement asymptomatique.

2.6.2.2.3 Etat immunitaire :

Comme chez l'homme, le parasite s'installe plus facilement chez l'animal sur un terrain immunodéprimé. Chez le cheval, le premier cas de cryptosporidiose a été décrit chez un poulain immunodéprimé. Chez le chat, les symptômes apparaissent lors de co-infection avec le FeLV (virus leucémogène félin) qui induit des immunodépressions. Au moment de l'agnelage, le niveau d'excrétion d'oocystes augmente chez les brebis (De Graaf et al., 1999). La pression d'infection augmente dans le milieu ambiant au moment où les agneaux sont les plus vulnérables. Chez les bovins, il n'y a pas d'augmentation de l'excrétion autour de la mise-bas (Atwill et al., 1998).

2.6.2.3 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 entre animaux peut se faire directement c'est-à-dire d'animal à animal ou indirectement via l'eau utilisée pour la désinfection, le personnel qui s'occupe des animaux,

les locaux ou le matériel utilisé... Les oocystes étant très résistants, tout ce qui n'est pas drastiquement désinfecté peut véhiculer des oocystes

2.6.2.4 Facteurs de risques :

2.6.2.4.1 Saison :

La période à risque pour la contamination des veaux est l'hiver car c'est à cette période qu'il y a le plus grand nombre d'animaux dans la classe d'âge la plus à risque (Mohammed et al, 1999). C'est au pic d'incidence des naissances qu'a lieu le pic d'incidence de la maladie. De plus, les animaux sont gardés à l'étable et la transmission de la maladie se fait plus aisément lorsque la densité et les contacts entre animaux augmentent. Cependant, ce résultat est à moduler en fonction du pays, du mode d'élevage (animaux en stabulation, au pré...) ou encore de la répartition des mises bas sur l'année. Ainsi, lors d'une étude conduite de Février à Août sur l'excrétion des bovins en Californie, la probabilité d'excréter des oocystes de *Cryptosporidium parvum* au mois de Mai est supérieure à celle des autres mois et ce de manière inexpliquée (Atwill, et al, 1999). La saison à laquelle se produisent les vêlages n'a pas non plus d'influence sur l'excrétion des oocystes (Atwill, et al, 1999). On pourrait penser que, les oocystes étant sensibles à la chaleur et à la dessiccation, il y aurait une diminution du nombre de cas pendant la saison chaude. Même si certains auteurs notent cette baisse en été (Lefay, et al, 2000), la saison ne semble pas jouer un rôle dans la contamination vue que cette dernière est direct d'un animale à l'autre sans laisser aux oocystes le temps de résider au sol et de subir les aléas de température et d'humidité du milieu extérieur.

2.6.2.4.2 Densité animale :

Une trop forte densité animale dans un troupeau est responsable d'une augmentation du risque de transmission par voie fécale-orale car elle augmente les chances de contacts entre individus contaminés et individus récepteurs. Ainsi, lorsqu'on multiplie par 10 la densité de bovins dans un troupeau, on multiplie par 2 ou 3 la probabilité d'excréter *C. parvum* dans ce troupeau (Atwill, et al, 1999). De même, les plus sévères épizooties se produisent lorsque la densité animale est la plus élevée (Anderson, 1998). La conception des bâtiments a donc un rôle à jouer dans la contamination en favorisant le contact avec les agents pathogènes lorsque la densité animale est trop élevée, le renouvellement de l'air insuffisant et l'hygiène des litières douteuse.

2.6.2.4.3 Conduite d'élevage :

Certains comportements dans la gestion d'un élevage peuvent conduire à une augmentation du risque de contamination des animaux. Chez les veaux, les maternités collectives, la surpopulation, le stress d'un sevrage trop précoce, les transports vers des marchés... contribuent à une augmentation du risque de cryptosporidiose clinique surtout lorsque les animaux sont maintenus dans de mauvaises conditions d'hygiène. Chez les agneaux, le refroidissement en période néonatale dû aux mauvaises conditions climatiques, les infections intercurrentes ou encore les déficits nutritionnels augmentent la probabilité d'apparition de la maladie.

Dans une étude, le fait de nourrir des veaux à la main avec du lait reconditionné est associé à une diminution du risque infectieux. La ventilation du bâtiment d'élevage et le paillage quotidien des litières avec de la paille propre sont également associés à une diminution du risque. En revanche, la présence d'autres espèces animales, capables d'héberger le parasite, au contact du troupeau est un facteur de risque d'apparition de la maladie (Mohammed et al., 1999).

2.6.2.4.4 Rôle de l'épandage de fumier :

Le recyclage des micro-organismes est assuré par l'application de fumier sur les champs dans un but de fertiliser et d'enrichir le sol. La dissémination et la pérennisation de la maladie dans une exploitation, ce fait généralement grâce au fumier contenant les oocystes. La mise à l'herbe constitue le moment opportun pour la contamination, en effet la grande résistance des oocystes leur permet de survivre longtemps dans les herbages.

La contamination est également possible indirectement par l'ensilage d'herbe contaminée. En effet, si le sol est contaminé et que les oocystes survivent pendant toute la période de croissance de la plante, il est possible de retrouver des oocystes viables dans un ensilage au bout de 3 mois (Merry et al, 1997). Épandre fréquemment du fumier revient à multiplier par 8 la chance de détecter des oocystes dans les ruisseaux recueillant les eaux de ruissellement. La plupart des fermes américaines ont une quantité d'eau importante qui s'écoule dans les cours d'eaux alentour. La majorité des fermes ont une gestion des eaux de surface et de leur écoulement qui contribue à dégrader la qualité de ces eaux et nécessite donc des améliorations (Sisch et al, 2000).

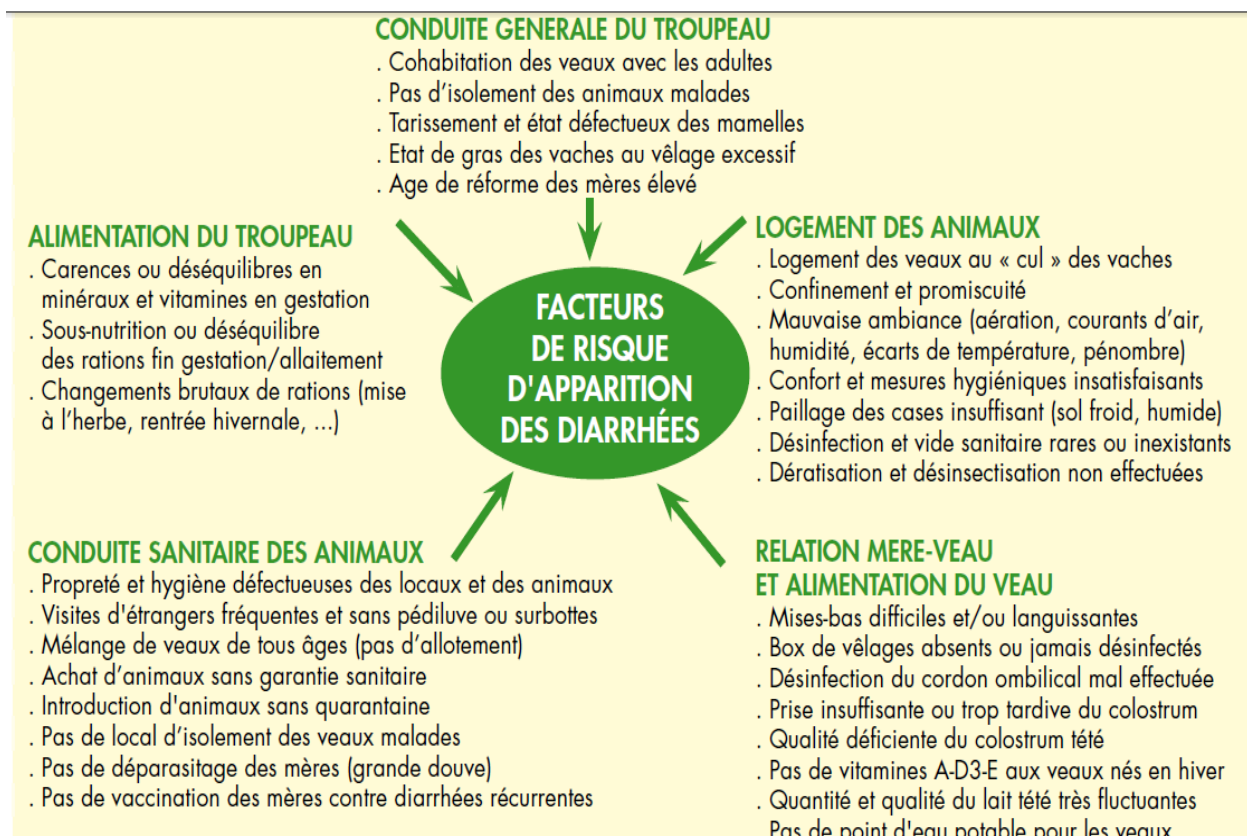


Figure 9 facteurs de risque d'apparition des diarrhées (Rousseau, 2006)

2.6.3 Chez l'homme :

Cryptosporidium parvum est un agent entéropathogène humain fréquent à travers le monde ; peu connu avant la pandémie de SIDA, il est maintenant reconnu comme l'un des principaux agents d'infection intestinale. Des cas de cryptosporidiose humaine ont été répertoriés dans plus de 90 pays sur tous les continents. L'infection par *Cryptosporidium parvum* pourrait concerner environ 300 000 personnes tous les ans aux Etats-Unis (Fayer et al., 2000).

2.6.3.1 Surveillance :

La surveillance fournit les bases pour la compréhension de l'épidémiologie de la cryptosporidiose (Nichols, 2003). Une bonne détection en laboratoire associée aux rapports en temps opportun et d'analyse régional ou national et les rapports sont essentiels pour la détection des épidémies. Sans détection de routine en laboratoire des cas de cryptosporidiose parmi les patients souffrant de diarrhée, il est peu probable que la plupart des épidémies sont détectées. La surveillance fournit des informations descriptives de base sur la maladie, y compris généralement l'âge, le sexe, la date de la maladie, la localisation géographique et

d'autres caractéristiques démographiques, ainsi que toute information au sujet de la source et la voie de transmission de l'infection. Les données de surveillance diffèrent entre et au sein des pays et peut être affectée par les pratiques de déclaration et les changements sociaux ainsi que de la maladie. Certaines des fonctionnalités de surveillance des maladies d'origine hydrique et de cryptosporidiose ont récemment été revues (Craun et al., 2006a ; Nichols et al., 2006). La qualité des données de surveillance peut être influencée par des systèmes médicaux de soins gérés, par la réduction de l'accès aux soins médicaux les week-ends et les jours fériés; par des critères de sélection appliqués à l'analyse d'échantillons de matières fécales dans le laboratoire; par la sensibilité et la spécificité du diagnostic; par la rapidité et l'exhaustivité de la notification à la surveillance et par le pourcentage d'échantillons acheminés pour référence (Nichols et al., 2006).

2.6.3.2 Période d'incubation :

La cryptosporidiose a une période d'incubation d'environ 5 à 7 jours. La période d'incubation est basée sur des études dans lesquelles le temps d'exposition est connu et est basé sur l'heure ou la date d'apparition des symptômes et des signes d'infection (chez les animaux la période pré-patente est basée uniquement sur des signes).

Lors de la grande épidémie liée à l'eau potable à Milwaukee, la période d'incubation moyenne a été estimée à 3 à 7 jours. Une étude des admissions en salle d'urgence des personnes âgées pendant l'épidémie de Milwaukee suggère une période d'incubation de 5 à 6 jours à partir de la constatation de la turbidité de l'eau (Naumova et al., 2003), qui est inférieur à celui observé pour les enfants (7 jours) et les adultes (8 jours) (Morris et al., 1998).

Une estimation des périodes d'incubation pour une épidémie de baignade dans une piscine de 5 jours après l'exposition (Insulander et al., 2005). Une épidémie due à une consommation dans un restaurant à Spokane a donné lieu à des périodes d'incubation de 3 à 9 jours (Morris et al., 1998). Lors d'une flambée liée au cidre de pomme, la période d'incubation était de 6 jours (extrêmes : 10 heures à 13 jours). Une épidémie de cryptosporidiose chez les patients VIH-positifs à cause de la glace contaminée a trouvé une longue période d'incubation (13 jours) par rapport à celui indiqué précédemment pour les personnes sans immunodéficiency (Ravn et al., 1991). Il y a clairement un bon degré de variation dans le temps de l'exposition à des symptômes chez les patients atteints d'une épidémie. Même si une partie de cette variation résulte d'erreurs dans l'estimation des événements d'exposition et l'apparition des symptômes probablement, il semble aussi être de véritables différences dans le délai requis pour obtenir

des symptômes. Il ya une possibilité que l'infection préalable pourrait modifier la période d'incubation, et la taille de l'inoculum peut même influencer la période d'incubation, bien que la preuve de ceci est clairsemée. La mesure dans laquelle la période d'incubation varie entre différentes espèces de *Cryptosporidium* reste incertaine (Nichols , 2008).

2.6.3.3 Les nourrissons et les enfants :

Les cas de cryptosporidiose sont distribués dans tous les groupes d'âge, mais dans la plupart des études sur l'incidence ou de prévalence, entre 1 - et 2 ans, c'est la population qui semble être le plus touché. Parce que la cryptosporidiose est fréquente chez les animaux dans les premières semaines de la vie, il est raisonnable de supposer que la relative faible incidence chez les nourrissons de moins de 1 reflète probablement une exposition réduite aux oocystes à la suite de l'allaitement au sein ou au biberon qui limitent l'exposition du bébé au milieu extérieure (contacte orale, contact avec le sol ect... Il y aura aussi un certain degré d'immunité provenant des anticorps maternels.

Dans les pays en développement, les enfants mal nourris présentent des taux d'infection plus élevés que ceux sans malnutrition. Il est également prouvé que les enfants atteints de cryptosporidiose sont plus susceptibles de souffrir de malnutrition et de mourir (Hunter et Nichols, 2002).

2.6.3.4 Populations immunodéprimées :

Les conditions médicales qui conduisent à une immunodépression peuvent permettre au Infections d'être particulièrement graves et ne réussissent pas à se résoudre (Hunter, et Nichols, 2002). Il s'agit notamment de SIDA non traités, déficiences immunitaires congénitales, comme le syndrome d'hyperimmunoglobulinémie, ect... Les enfants atteints de leucémie peuvent contracter une cryptosporidiose sévère, et l'infection peut se révéler un problème lors de greffe osseuse ou d'une transplantation d'organes.

2.6.3.5 L'âge et le sexe

En Angleterre et au Pays de Galles, il ya un grand nombre de cas entre 1 - et 2 ans que dans tout autre groupe d'âge (Nichols, et al ., 2006). Le nombre de cas chez les hommes dépasse le nombre de cas chez les femmes pour les enfants jusqu'à 16 ans, puis des changements de distribution entre les sexes de façon spectaculaire, avec un nombre beaucoup plus élevé de cas chez les femelles que chez les mâles (Nichols , 2008).

2.6.3.6 Facteurs de risques :

En recherchant les causes de la cryptosporidiose, de nombreuses études des manifestations et maladie sporadique ont été conduites, et l'évidence parasitologique a été obtenue. L'évidence peut fournir des informations sur les facteurs de risque qui indiquent des voies probables de transmission aussi bien que les sources de contamination et les défaillances possibles de santé publique qui ont contribué aux infections. Nous pouvant ainsi trouver des facteurs de risque apportés par la littérature (Nichols , 2008).

- Eau potable
- Source privée d'eau
- L'eau en bouteille
- Les crèmes glacées
- Les piscines
- Caractéristiques interactives de l'eau
- Les lacs et les rivières de loisir
- Contact direct avec les animaux
- Visites de fermes
- Animaux familiers
- Aliment pour animaux familiers
- Foires et expositions
- Visites à la campagne
- Diffusion intra familiale
- Crèches et écoles
- Hôpitaux
- Contacts avec des personnes immunodéprimés
- Camping
- Activité sexuelle
- Nourriture
- Lait non pasteurisé
- Jus de fruit
- Salades crues
- Mouches
- Mollusques
- Manipulateurs d'aliments

- Voyage à l'étranger
- Stations touristiques
- Voyage dans la nature

2.6.3.6.1 Les voies de transmission :

Les voies de transmission sont diverses et reflètent les voies de transmission des principaux microbes pathogènes intestinaux. *Cryptosporidium* diffère d'autres microbes pathogènes tels que les salmonelles dans son incapacité à se développer en dehors du corps, et d'une faible dose infectieuse exigée pour causer l'infection. Les voies de la transmission principales diffèrent entre *C.parvum* et *C.hominis*.

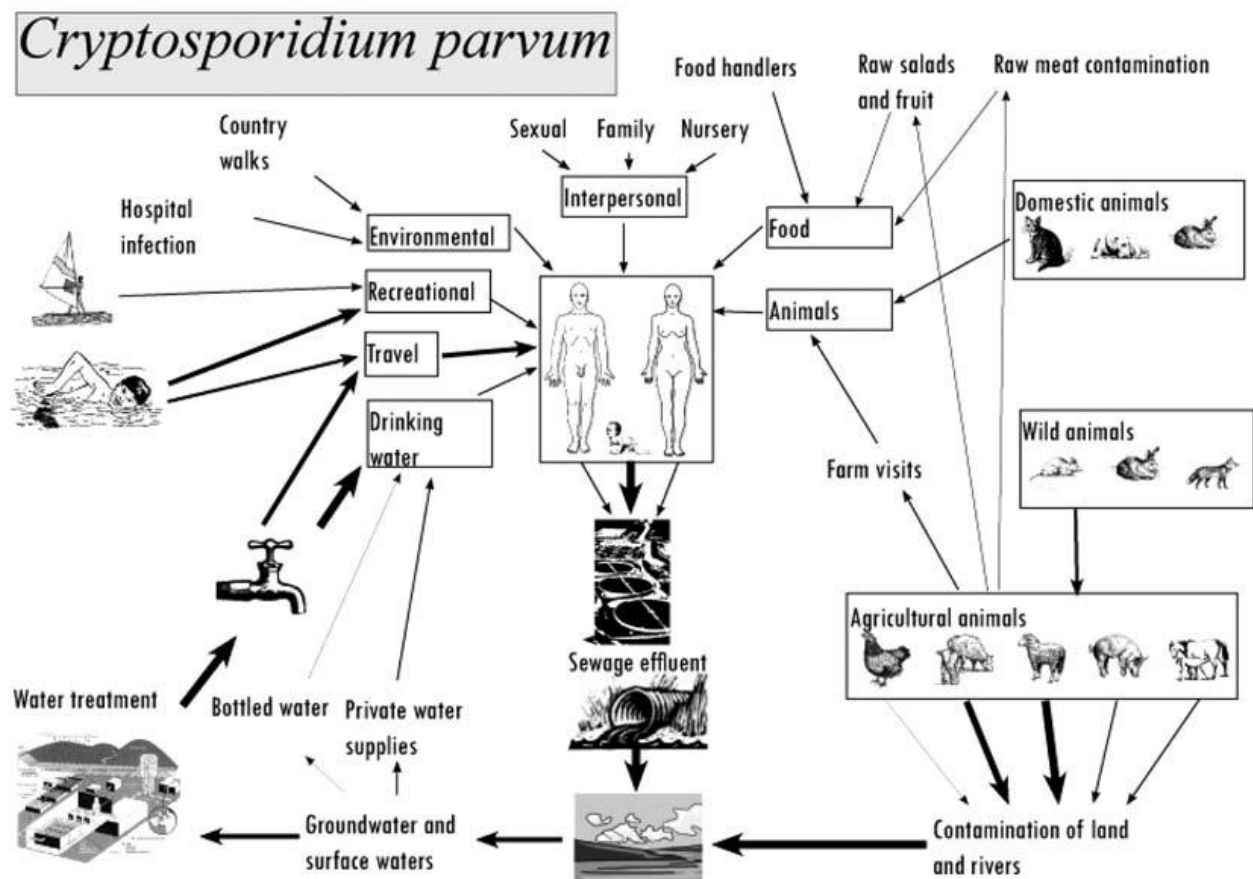


Figure 10 les voies de transmission de *C. parvum* (Nichols, 2008)

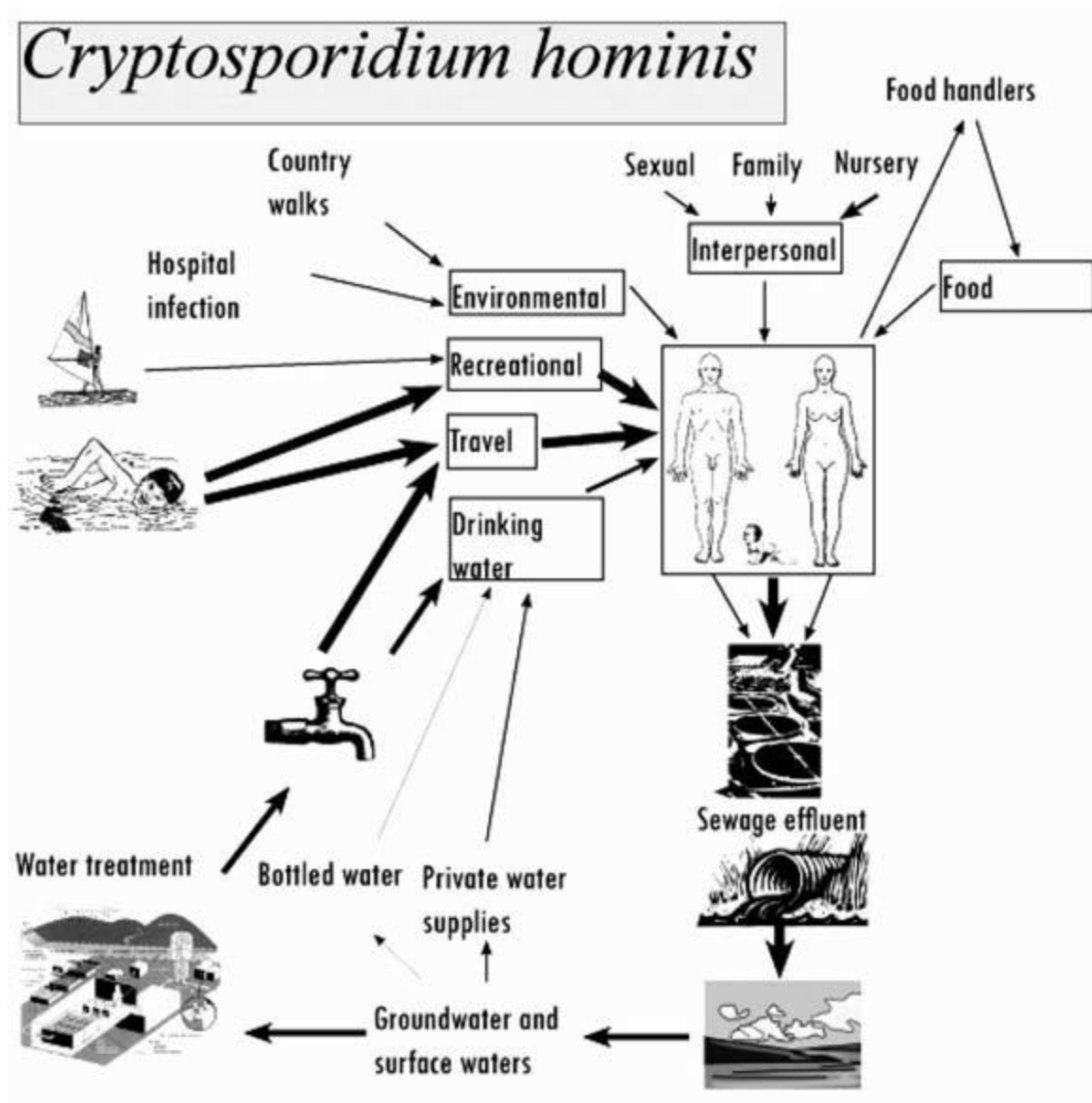


Figure 11 les voies de transmission de *C. hominis* (Nichols , 2008)

2.6.3.6.2 La transmission inter-humaine :

La transmission au sein des familles (Ribeiro et Palmer, 1986) est commun, et les études différencient habituellement les cas familiaux primaire de cas familiaux secondaires pour cette raison, au Royaume-Uni les cas se produisant dans les groupes de famille sont plus susceptibles d'impliquer *C. hominis* que *C. parvum*. *Cryptosporidium* peut être facilement transmis dans les crèches, les centres de soins de jour et les écoles (Teresa et al., 2006). la transmission inter-humaine de *Cryptosporidium* a été rapporté plus fréquemment chez les hommes séropositifs) (homosexuels) que chez les utilisateurs de drogues injectables, suggérant une transmission sexuelle (Pedersen et al., 1996). La transmission de *Cryptosporidium* dans l'environnement de l'hôpital a été signalée (Squier et Stout, 2000) et peut être un problème dans les unités qui traitent les patients immunodéprimés.

2.6.3.6.3 La transmission zoonotique :

Cryptosporidium peut être transmise de l'animal à l'homme par contact direct. Cela s'est produit avec les travailleurs vétérinaires (Preiser et al., 2003) et autres personnes exposées à des animaux (Stantic-Pavlinic et al., 2003) en particulier ceux dont les emplois sont associés avec des animaux de ferme (Mahdi et Ali, 2002) et les enfants qui visitent les fermes (Smith et al., 2004) Les infections provenant d'animaux de ferme sont principalement due a *C. parvum*. Une épidémie de fièvre aphteuse au Royaume-Uni en 2001 a conduit à une réduction de l'accès des populations à la campagne, et il y avait une réduction des cas de cryptosporidiose qui pourraient avoir été liés à cette reduction (Goh et al., 2005).

Cryptosporidium peut être détectée chez des chats et des chiens (Fontanarrosa et al., 2006), et les espèces présentes sont principalement *C. felis* et *C. canis*, mais parfois *C. parvum* et *C. meleagridis* (Hajdusek et al., 2004 ; Zhou et al., 2004).

Les aliments pour animaux peuvent être contaminés par *Cryptosporidium* (Strohmeyer et al., 2006), ce qui pourrait contribuer à des infections chez ces animaux.

2.7 Diagnostique :

2.7.1 Détection :

Un certain nombre d'articles récents ont fourni des examens complets des méthodes de diagnostic pour la détection de *Cryptosporidium* dans les échantillons cliniques et de l'environnement (Caccio, 2003 , 2004 ; Carey et al., 2004).

Dans le contexte clinique, pour les humains, les animaux domestiques ou sauvages, il ya un besoin d'outils diagnostiques rapides, sensibles et spécifiques qui peuvent guider un traitement approprié, et peut fournir des informations de valeur épidémiologique. *C. parvum*, *C. hominis* et de nombreuses autres espèces et génotypes de *Cryptosporidium* sont morphologiquement indiscernables en termes de taille et c'est seulement les grandes oocystes de *C. andersoni* et *C. muris* que l'on peut distinguer de manière fiable à partir de ceux-ci. En outre, la microscopie a souffert du problème de *Cryptosporidium* distinguer des autres composants fécaux de taille et de forme tels que les levures et algues similaire. Un certain nombre de techniques de coloration ont été développés, mais beaucoup souffrent de problèmes de sensibilité et de la spécificité et des résultats variables entre les laboratoires est commun (Elliot et al., 1999). La méthode de coloration la plus récente à avoir été décrite pour la détection de *Cryptosporidium* dans les selles emploie une technique de coloration négative utilisation du vert malachite avec des résultats supérieurs à d'autres méthodes (Elliot et al., 1999).

2.7.2 Mise en évidence du parasite :

2.7.2.1 Chez l'animal :

2.7.2.1.1 Mise en évidence des oocystes :

Chez l'animal, le diagnostic fait appel à des techniques de concentration et de coloration à partir des matières fécales. Ces techniques sont suffisantes pour le diagnostic de cryptosporidiose cliniques mais pas pour des échantillons contenant un très petit nombre de parasites. Lorsqu'on recherche les porteurs sains dans un troupeau par exemple, il faut faire appel à des techniques plus sensibles comme l'immunofluorescence ou l'ELISA ; des kits sont disponibles mais ces techniques sont plus coûteuses.

2.7.2.1.1.1 Méthodes biophysiques :

Les méthodes de concentration des oocystes dans les selles tout en réduisant les débris augmentent la sensibilité des méthodes de diagnostic (Garcia et al., 1983).

Les méthodes de concentration les plus communs comprennent la méthode de flottation de saccharose de Sheather et formol-éther (acétate d'éthyle formol) concentration. Bien que certains chercheurs trouvent Sheather la méthode la plus fiable (Ma et Soave, 1983). Elle est rarement utilisée dans l'analyse des selles humaines en raison de leur teneur en matières grasses. Si des oocystes ne sont pas lavés, le saccharose peut également interférer avec la coloration et l'adhésion aux lames de microscope (Casemore et al., 1985). La méthode formol-

éther modifié, signalée comme étant plus sensible que la méthode d'Allen et Ridley (1970), est recommandé pour les selles contenant quelques oocystes (par exemple, des échantillons de suivi des personnes qui ont guéri (Casemore, et al, 1985). Mais d'autres méthodes de flottation fécale classiques peuvent être utilisées pour des matières fécales animales à faible excrétion d'oocyste (par exemple, les excréteurs asymptomatiques) ne seront probablement pas diagnostiqués, parce que le nombre d'oocystes seront en dessous de la limite de détection de ces méthodes conventionnelles.

2.7.2.1.1.1.1 Centrifugation :

Les oocystes se déposent plus rapidement si la suspension de selles est soumise à une centrifugation. Cependant, les particules d'aliments partiellement digérés seront également dans les sédiments et peuvent masquer la présence d'oocystes dans les préparations de lames microscopiques. Pour surmonter ce problème potentiel, retirez les grosses particules avant centrifugation en filtrant les selles émulsionnées à travers un tamis. Plusieurs options de tamisage sont disponibles comme de la gaze pliée médical, qui est ensuite éliminée, filtres à mailles cuisine de type et de métal ou de plastique tamis blindés de multiples tailles de pores. La quantité de selles examinées peut influencer les résultats. Par exemple, lorsque 25 répétitions d'excréments bovins ont été dopés avec chacun 10, 50 et 100 oocystes de *C. parvum* par gramme de fèces et soumis à un tamisage suivie de chlorure de césium centrifugation de gradient de densité, les détections plus positifs à chaque niveau de fortification ont été obtenus dans les échantillons de 15 g que de 10 - ou 5 g (Fayer, communication personnelle).

Pour les selles humaines, après addition de formol pour la fixation et la conservation, le seuil de détection peut être augmenté en ajoutant de l'éther ou l'acétate d'éthyle pour éliminer les graisses et les huiles. Après centrifugation, un bouchon de graisse peut être vu à l'interface des deux liquides. La couche d'éther, le gras, et la couche de formol sont éliminées et le culot retenu pour examen. De nombreuses modifications à cette procédure ont été préconisées. Le protocole suivant modifié par Allen et Ridley (1970) permet d'obtenir une concentration de 15 - à 50 fois.

2.7.2.1.1.1.1.1 Concentration formol-éther pour oocystes :

Matériel :

Des gants jetables, tubes à centrifuger coniques en verre de 15 ml, jetables bâtonnets applicateurs en bois, tamis (taille d'ouverture de 425 µm, diamètre 38 mm), 50 ml Pyrex

gobelet, centrifugeuse avec 15 ml swing-out seaux, verre lames de microscope, lamelles, marqueurs de diamant, microscope à champ lumineux avec 10 × et 40 × lentilles de l'objectif, 10% de formol et l'éther éthylique (ou acétate d'éthyle).

Méthode :

1. Porter des gants. Prendre un échantillon d'environ 0,5 à 1 g de selles avec un applicateur bâton et le placer dans un tube à centrifuger propre contenant 7 ml de formol à 10%. Si les selles sont liquides, verser environ 750 µl dans le tube de la centrifugeuse.
2. mélanger soigneusement l'échantillon avec un bâton applicateur.
3. Filtrer la suspension au travers d'un tamis ou une gaze dans un bécher, verser le filtrat dans le même tube.
4. Ajouter 3 ml d'éther éthylique (ou acétate d'éthyle) à la solution formol, sceller l'ouverture du tube avec un bouchon en caoutchouc (ou un pouce ganté sur le haut du tube), et agiter la solution vigoureusement pendant 30 s. Inverser le tube à quelques reprises au cours de cette procédure, et relâcher la pression développée doucement en enlevant le bouchon en caoutchouc (ou votre pouce) lentement.
5. Centrifuger le tube à 1200 g pendant 2 min.
6. Desserrer le bouchon gras avec une baguette de bois par passage de la baguette entre les parois internes du tube et le bouchon. Jeter le bouchon et le fluide à la fois au-dessus et au-dessous de lui en renversant le tube, permettant seulement le dernier d'une ou deux gouttes de retomber dans le tube. Jeter ce fluide contenant de l'éther diéthylique et du formol dans le récipient à déchets rescellable marquée maintenu dans la sorbonne. Reprendre le culot par l'agitation.
7. Verser la totalité ou la majorité de l'extrait final sur une lame de microscope, ou transférer le contenu remis en suspension sur une lame de microscope avec une pipette Pasteur. Laisser sécher à l'air.

2.7.2.1.1.2 Flottation des oocystes :

La densité d'un oocyte viable et intacte de *C. parvum* est d'environ 1,05 g/ml (vitesse de sédimentation = 0,0018 m / h) et le principe de flottation utilise un milieu de suspension liquide qui est plus dense que les oocystes à concentrer. Lorsque les matières fécales sont

mélangées avec la solution de flottation, les oocystes remontent à la surface et peuvent être écrémés ou aspirés de la surface. Pour qu'un fluide de flottaison puisse être utilisé dans le diagnostic, il doit non seulement avoir une densité plus grande que les oocystes, mais ne doit pas les endommager ou de les rendre méconnaissables. Saumure, une solution de NaCl aqueuse concentrée, à une densité de 1.12 à 1.20, les échantillons doivent être examinés dans les 5 à 20 min après la flottation. La solution de saccharose induit une moindre distorsion d'oocystes, mais un stockage prolongé en saccharose peut entraîner des changements morphologiques (Robertson et al., 1993b). Les techniques de flottation des oocystes décrites plus loin concentrent de manière sélective les oocystes viables (Bukhari et Smith, 1995). Les oocystes dans les selles liquides se concentrent mieux que ceux dans les selles semi-formées et formées parce qu'ils sont moins attachés aux grosses particules fécales. Les selles Semi-solides et solides doivent être bien mélangées dans une eau ou de la saumure de qualité pour assurer la séparation maximale des oocystes de débris fécaux. Les oocystes peuvent être partiellement purifiés et concentrés par l'éther formol ou des méthodes de concentration d'éther de l'eau avant d'être concentré par les méthodes de flottation.

2.7.2.1.1.2.1 Protocole de flottation en solution saline concentrée :

La Solution saline saturée (densité 1,2) est préparée par addition d'environ 200 g de chlorure de sodium à 200 ml d'eau. La solution est chauffée doucement ($<60^{\circ}\text{C}$) tout en étant agitée en permanence et de petites quantités de chlorure de sodium (environ 10 g) sont ajoutés à intervalles de 10 min jusqu'à ce que la solution soit saturée. La solution saturée en sel est ensuite maintenue à 4°C . La solution de sel saturée froide est ensuite transférée dans une éprouvette graduée de 500 ml et, le cas échéant, sa gravité spécifique est ajustée à 1,2 en ajoutant de l'eau froide, grade 1 (4°C). La solution saturée en sel est transférée dans une bouteille en verre avec bouchon à vis et conservée à 4°C jusqu'à utilisation.

Les échantillons fécaux sont bien mélangés dans 10 ml de saumure (gravité spécifique 1.2) et centrifugé ($1050 \times g$, 2 min). Après centrifugation, 2 ml de liquide à partir du ménisque (contenant les oocystes) est enlevée, on lave trois fois à l'eau et on remet en suspension au volume requis.

2.7.2.1.1.3 Purification des oocystes :

Les oocystes purifiés sont nécessaires pour la recherche fondamentale et appliquée, des animaux et des études sur l'infectiosité de l'homme, la désinfection et les études de traitement de l'eau, et d'autres fins. L'approvisionnement commercial en oocystes de *C. parvum* purifiés

sont disponibles en Amérique du Nord, au Royaume-Uni, en Australie et peuvent être expédiés sous Association du transport aérien international (IATA). *Cryptosporidium muris* et *C. baileyi* oocystes peuvent également être fournis dans le commerce, mais la demande est beaucoup plus faible que pour *C. parvum*. La plupart des procédures de purification consistent à enlever des débris fécaux par tamisage à travers une série de tamis classés, l'élimination des graisses et des lipides fécaux, et la concentration des oocystes. Les oocystes peuvent être purifiés dans le laboratoire utilisant des méthodes fondées sur le saccharose et le sel flottation (décrite plus haut). Le sucrose discontinu et l'isopycnique Percoll gradients (Arrowood et Sterling, 1987), le chlorure de césium et de Percoll (Kilani et Sekla, 1987), saccharose discontinu et le chlorure de césium (Arrowood et Donaldson, 1996), floculation de l'acide et suspension de sodium dodécyl sulfate (Hill et al., 1990), l'eau ou l'éther- formol (Bukhari et Smith, 1995 ; Nichols et al., 2006a) et la séparation immuno-magnétique.

2.7.2.1.1.2 La méthode Immunologique - séparation Immunogénétique (IMS) :

IMS n'est normalement pas utilisé pour le diagnostic clinique ou vétérinaire de routine, parce que les oocystes suffisantes sont présents soit dans les selles non concentrés ou des selles concentrées en utilisant des méthodes biophysiques. IMS est limité par le temps et les contraintes de coûts. C'est une option lors d'enquêtes sur des cas spécifiques d'infection ou de maladie, en particulier lorsque l'indice de suspicion clinique ou épidémiologique est élevée.

Le principe de base de l'IMS est que les épitopes d'oocystes exposées à la surface sont recouverts de billes magnétisées revêtues d'anticorps monoclonaux (Acm) reconnaissant la protéine de la paroi des oocystes. Le complexe billes - oocystes est concentré en suspension par l'application d'une force magnétique d'un aimant permanent qui attire l'ensemble billes--oocystes dans un tube à essai. Une fois attirés par l'aimant, les oocystes sont maintenus en place, et le fluide de suspension est éliminé par aspiration. Le complexe billes-oocystes peut être dissociés dans une solution acide, libérant concentré et purifié (Campbell et Smith, 1997).

2.7.2.1.2 Méthodes de coloration :

Tyzzer (1910, 1912) utilisé Giemsa pour colorer les stades du cycle de vie de *Cryptosporidium* dans les frottis de la muqueuse de l'intestin de souris. Près de 70 ans plus tard, Pohlenz et al. (1978) ont utilisé Giemsa pour détecter les oocystes dans les frottis de fèces de bovins, et Tzipori et al. (1980) ont utilisé pour détecter les oocystes dans les selles humaines. D'autres colorations, comme celle de Romanowsky et celle de Jenner ont été utilisées. La coloration acide de Ziehl-Neelsen (ZN) utilisé par Henriksen et Pohlenz (1981)

pour détecter les oocystes dans les fèces de veaux a été modifiée par Casemore et al. en 1984 (modifiée Ziehl Neelsen modifiée, mZn) est devenu largement utilisés pour colorer des oocystes dans les frottis fécaux (Casemore, 1991). De nombreuses modifications à la méthode mZn ont été publiées. La méthode spécifique est souvent le reflet préférences de l'opérateur plutôt que des différences de sensibilité et de spécificité. La coloration auramine phénol (AP), la coloration fluorigène, et la coloration négative dite de Heine avec une forte carbolfuchisine (Casemore, et al, 1985 ; Casemore, 1991) , ou le permanganate de potassium (Fleck et Moody, 1988), ont été largement utilisés pour colorer des oocystes dans les frottis fécaux. l'auramine phénol (AP) est plus sensible que la Ziehl-Neelsen modifiée (mZn) (Casemore et al., 1985) car elle colore aussi bien les parois externes de l'oocyste que les parties internes. Le phénol accélère la pénétration de l'AP à travers la paroi de l'oocystes. Les oocystes et les sporozoïtes peuvent être facilement visibles à l'isothiocyanate de fluorescéine (FITC) et filtre ultraviolet (UV) filtres d'un microscope à épifluorescence. Safranine bleu de méthylène colore les oocystes en orange- rose vif (Baxby et al., 1984).

En utilisant la coloration a l'auramine phénol et la coloration négative de Stein avec une forte carbolfuchisine, les oocystes de *Cryptosporidium* apparaissent comme anneau (4 à 6 µm de diamètre) et présentent une fluorescence caractéristique lumineuse sur un fond rouge foncé.

En utilisant la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée, les oocystes, colorés en rouge apparaissent comme des billes sur un fond vert pâle. Le degré et la proportion de la coloration varie avec les oocystes. Les structures internes prennent la coloration à des degrés divers. Certains semblent amorphes, tandis que d'autres ont des formes croissant caractéristiques de sporozoïtes. Les difficultés surgissent dans la discrimination entre les oocystes de *Cryptosporidium* et d'autres objets sphériques taille similaire, en particulier avec la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée, lorsque seuls quelques oocystes sont présents. Les levures et les débris fécaux se colorent d'un rouge terne avec la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée. Quelques spores bactériennes pourraient être acido-résistantes, mais ils sont trop petits pour causer de la confusion. *Cyclospora cayetanensis* et *Isospora belli* colorés en rouge aussi, mais sont beaucoup plus grandes. Le stockage des oocystes dans le formol peut compromettre la coloration.

Avec la coloration de Jenner ou Giemsa, les oocystes apparaissent semi-translucide et colorent en bleu azur. Ils peuvent contenir de quatre à six points rouges ou mauves. Formes "fantômes" avec un aspect en verre dépoli et généralement dépourvues de granules peuvent

également être trouvés. Un étroit halo clair pourrait entourer l'oocystes. Pour les échantillons contenant quelques oocystes, l'utilisation d'une méthode de dépistage initial comme l'auramine phénol, suivie d'une méthode de confirmation comme l'immunofluorescence peut augmenter la confiance dans le diagnostic. Où la microscopie à fluorescence n'est pas disponible, le dépistage utilisant la Ziehl-Nelson modifiée et plus intéressant. Les deux caractéristiques morphologiques et de coloration spécifiques des oocystes doivent être considérés lorsqu'on tente de faire un diagnostic de laboratoire de la cryptosporidiose. Les échantillons fécaux de *Cryptosporidium* positifs devraient être disponibles pour que le personnel puisse se familiariser avec les techniques de coloration. Lorsqu'ils sont obtenus à partir d'examen de routine, des échantillons de selles contenant des oocystes de *Cryptosporidium* - peuvent être conservés à 4 ° C soit 2,5% du dichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$) ou formol à 10% pour l'assurance qualité et à des fins de référence.

2.7.2.1.2.1 Détection des oocystes de *Cryptosporidium* dans les frottis fécaux par Auramine Phénol :

2.7.2.1.2.1.1 Utilité du test :

Cette procédure rapide est adaptée pour les cas symptomatiques. Les oocystes sont clairement visibles sur un fond sombre sous l'objectif de faible puissance (10 ou 20 x) d'un microscope à fluorescence. Les oocystes doivent être confirmées sous une forte puissance (40, 50, ou 100 x) objective et mesurée sous l'objectif de 100 x. Les oocystes peuvent être raclées des lames de microscope colorées par AP pour l'extraction ultérieure de l'ADN (Amar et al., 2001).

2.7.2.1.2.1.2 Matériel :

Des gants jetables, lames de microscope en verre, bocal Coplin ou similaire, le méthanol (95%), microscope à fluorescence équipé FITC (excitation 490 nm; émission 510 nm) et ultraviolet (excitation 355 nm; émission 450 nm) filtres. Phénol solution Auramine [Lempert], HCl à 3% dans 70% d'alcool dénaturé, 0,1% de permanganate de potassium. Toujours inclure une lame de contrôle positif.

2.7.2.1.2.1.3 Methode :

1. Fixer le frottis concentré dans le méthanol pendant 10 min.
2. Immerger la lame dans le colorant auramine phénol pendant 10 min.
3. Rincer la lame dans l'eau du robinet pour enlever l'excès de colorant.

4. Décolorer la lame dans HCl 3% dans l'alcool dénaturé pendant 5 min.
5. Rincer la lame dans l'eau du robinet.
6. Immerger la lame dans du permanganate de potassium pour 30 s.
7. Rincer la lame dans l'eau du robinet.
8. Sécher à l'air la lame et examiner la présence d'oocystes à l'aide d'un microscope à fluorescence équipé de filtres FITC.
9. Mesurer la taille et la forme des corps fluorescents.

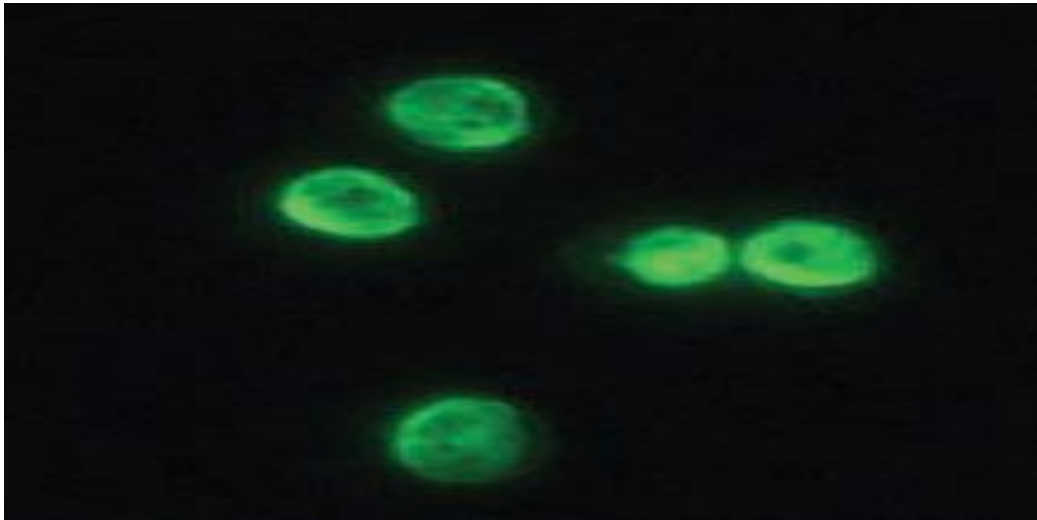


Photo 1 oocystes de *Cryptosporidium* colorés avec la technique auramine phénol (Smith, 2008)

2.7.2.1.2.2 Détection des oocystes de *Cryptosporidium* en utilisant la coloration de Ziehl Neelsen modifiée :

2.7.2.1.2.2.1 Utilité du test :

Cette procédure est adaptée aux cas symptomatiques. Colorés en variable sur un fond vert pâle sous l'objectif de faible puissance (20 ×) d'un microscope en champ clair. Les oocystes doivent être confirmées sous une forte puissance (40, 50, ou 100 ×) objective et mesurée sous l'objectif de 100 ×. Les oocystes peuvent être raclées des lames de microscope la coloration au mZn tachés (Amar et al., 2001) pour l'extraction de l'ADN.

2.7.2.1.2.2.2 Matériel :

Des gants jetables, lames de microscope en verre, bocal Coplin ou similaire, microscope en champ clair, l'huile d'immersion, le méthanol (95%), le frotteur forte carbolfuchsin, 0,4% de

vert malachite (w / v dans de l'eau distillée), HCl à 1% (v / v) dans le méthanol (94%), et de l'huile d'immersion. Toujours inclure une lame de contrôle positif.

2.7.2.1.2.2.3 Méthode :

1. Fixer le frottis concentré dans le méthanol pendant 3 min
2. Plonger la lame dans la fuchsine phéniquée et colorer pendant 15 min.
3. Rincer la lame dans l'eau du robinet.
4. Décolorer la lame dans HCl 1 % (v / v) dans du méthanol pendant 10 à 15 s .
5. Rincer la lame dans l'eau du robinet.
6. Contre colorer la lame avec 0,4% de vert malachite pendant 30 s.
7. Rincer la lame dans l'eau du robinet.
8. Séchez la et balayer la lame en utilisant la lentille 40 × objectif. Confirmer la présence d'oocystes a l'objectif 100 x avec huile a immersion.
9. Mesurer la taille et la forme des corps rouges colorées.

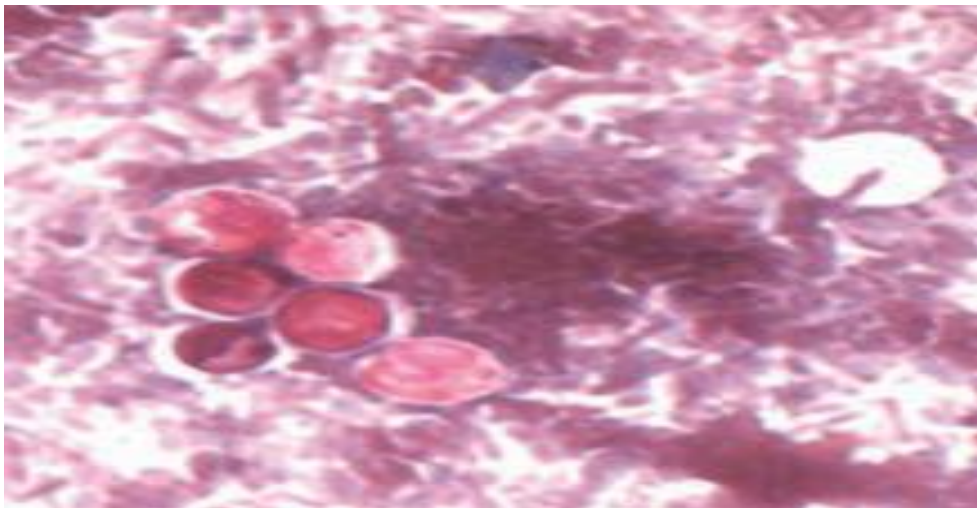


Photo 2 oocystes de Cryptosporidium colorés avec la technique de Ziehl-Neelsen modifiée (Smith, 2008)

2.7.2.1.3 Méthodes immunologiques :

2.7.2.1.3.1 Détection de l'antigène utilisant des anticorps marqués fluorescents :

La détection par immunofluorescence directe et indirecte en utilisant des anticorps monoclonaux dirigés contre des antigènes de la paroi de l'oocyste de *Cryptosporidium* (C-anticorps monoclonaux) sont des méthodes spécifiques et sensibles pour détecter les oocystes dans les frottis fécaux (McLauchlin et al., 1987), et dans les échantillons environnementaux (Smith et Grimason, 2003) .

2.7.2.1.3.2 Détection de l'antigène utilisant des anticorps marqués d'enzymes :

Initialement, les systèmes de dosage immunoenzymatique (EIA) et le dosage immunoenzymatique (ELISA) diffèrent dans la conception des essais, mais les deux techniques sont basées sur les principes de séparation de réactifs liés et non liés, d'augmenter la spécificité du test, la sensibilité et la précision, et la détection de l'antigène par l'anticorps, en utilisant une enzyme telle que la molécule rapporteur. Les EIE sont utiles parce que : (1) les substances, telles que des anticorps ou antigènes, peuvent être absorbés passivement à des surfaces solides et (2) parce que l'un des réactifs est fixé à la phase solide, la séparation des réactifs liés et libres se fait facilement. Les principales raisons pour lesquelles le format ELISA prédomine dans les maladies infectieuses diagnostics y compris : (1) adsorption passive de matières plastiques sous forme de microplaques de 96 puits (ou barrettes de 8 puits), permet une manipulation facile, et la distribution de réactifs, l'utilisation de petits volumes de réactifs, et la possibilité de traiter un grand nombre d'échantillons rapidement. (2) la réaction de la couleur peut être lu par l'œil, ou automatisé en utilisant un spectrophotomètre multicanal, permettant le transfert électronique de données qui peut être analysée par les progiciels statistiques.

2.7.2.1.4 Tests immunoenzymatiques :

Les antigènes de *Cryptosporidium* peuvent être recherchés dans les échantillons fécaux avec ou sans concentration de l'oocyste. Formats ELISA et immunochromatographique (IC) sont les applications les plus utilisées pour les kits commerciaux . Le test ELISA sandwich est basée sur le principe selon lequel un anticorps lié sur des puits de 96 microplaques ainsi ou bandes se lie à et capture des antigènes de *Cryptosporidium* dans les suspensions fécales. Un second anticorps se lie à des épitopes exposés sur l'antigène capturé, en sandwich entre deux anticorps. Cette réaction peut être visualisée de deux manières : soit le deuxième anticorps peut être couplé à l'enzyme ou d'un troisième anticorps couplé à l'enzyme et qui se lie au

second anticorps, L'utilisation de du troisième anticorps marqué par une enzyme peut augmenter la sensibilité du dosage. La réaction est visualisée après l'addition d'un substrat qui est catalysée par l'enzyme pour produire une couleur soluble dont l'intensité peut être évaluée visuellement ou par spectrophotomètre. Certains kits ELISA commerciaux sont meilleurs pour détecter l'infection que certains kits immuno fluorescent, bien que les rapports des différents groupes de recherche varient (Graczyk et al., 1996 ; Garcia et Shimizu, 1997) .

2.7.2.1.5 Les dosages immunochromatographiques :

Dans le test ELISA sandwich, la vitesse de l'interaction antigène-anticorps est déterminée par la diffusion moléculaire de l'antigène et de l'anticorps de capture, normalement d'environ une heure par réaction. En immunochromatographie à flux latéral, tous les fluides sont attirés par effet de mèche à travers une membrane enfermée dans une cassette. Les antigènes de *Cryptosporidium* solubles dans l'échantillon d'essai sont tirés à travers la membrane, entrent en contact, et se lient aux anticorps immobilisés, ce qui augmente considérablement la vitesse de l'interaction antigène-anticorps. Les réactions positives sont de nature qualitative et sont considérées comme une bande de couleur à un endroit spécifique sur la membrane, normalement identifiée par une ligne sur la cassette. Format de dosage peut varier entre kits. Comme pour la détection de l'antigène par ELISA, responsable du diagnostic doit toujours déterminer si des contre-indications s'appliquent à l'utilisation d'un test commercial et tout fixateur. Les Dosages immunochromatographiques fournissent aux laboratoires de diagnostic une autre méthode pratique pour effectuer des tests de détection de l'antigène de *Cryptosporidium* sur des échantillons de selles. La spécificité est signalée à être élevée (98-100%). certains (Chan et al., 2000) rapportent une sensibilité égale ou meilleure que les méthodes de coloration d'oocytes, tandis que d'autres (Johnston et al., 2003 ; Weitzel et al., 2006) , rapportent une sensibilité réduite par rapport aux méthodes conventionnelles microscopiques. Les Dosages immunochromatographiques peuvent être très précieux en cas d'infection en l'absence d'oocystes détectables.

Tableau 8 : Les avantages et inconvénients des méthodes diagnostiques des oocystes de cryptosporidium (Smith, 2008)

Techniques	sensibilité	spécificité	rapidité	Facilité d'identification	Consistance des selles	Rentabilité
ZNm	+	+	++	++	Meilleure avec des selles liquides	++
AP	++	++	+++	+++	Meilleure avec des selles liquides	+++
IF	+++	+++	++	+++	Meilleure avec des selles liquides	+
EIA	+++	+++	+++	+++	Fragmentation des selles requis	++
IC	+++	+++	++++	++++	Fragmentation des selles requis	++

ZNm=Ziehl Neelsen modifiée ; AP=Auramine Phénol ; IF= Immunofluorescence ; EIA= enzyme immunoassay ; IC=immunochromatographie

2.7.3 La détection d'anticorps :

Preuve en laboratoire de l'exposition / infection peut être obtenue indirectement suite à l'analyse des différents fluides corporels, tels que le sérum / plasma, la salive et les matières fécales (coproantibody) pour détecter la présence d'anticorps dirigés contre Les antigènes spécifiques de Cryptosporidium. En l'absence de corroboration des preuves, l'analyse clinique ou de laboratoire pour les anticorps contre les antigènes spécifiques de Cryptosporidium fournit la preuve de l'exposition antérieure ou actuelle et / ou une preuve indirecte de l'infection. Ainsi, l'évidence d'anticorps spécifiques circulants ne profite que pour un diagnostic si une séroconversion vers une sérologie positive ou d'élévation du titre peut être attribué à une infection actuelle ou récente. En l'absence de séroconversion démontrer, élévation titre ou commutation isotypique des anticorps, des réactions positives peuvent indiquer soit une infection en cours, une exposition passée, ou les deux. En conséquence, les méthodes sérologiques ont tendance à être utilisés à des fins épidémiologiques . La plupart des tests sérologiques utilisés pour les enquêtes séro-épidémiologiques de l'exposition sont ELISA ou immuno-enzymatique blot (EITB, Western blot) sur la base, en utilisant divers extraits aqueux de oocystes de *C. parvum*. Récemment, ELISA, utilisant des antigènes recombinants *C. parvum* et partiellement purifiée, ont été décrits.

2.7.4 Examens histologique :

Avant 1980, la cryptosporidiose humaine a été diagnostiquée histologiquement en trouvant les stades du cycle de vie dans la région des microvillosités de la muqueuse intestinale obtenu par biopsie ou à l'autopsie. En utilisant la coloration à l'hématoxyline et l'éosine, ces étapes sont apparues comme de petits corps sphériques (2 à 5 μm) dans la région des microvillosités.

2.7.5 Diagnostic moléculaire :

Les méthodes de détection moléculaires, utilisées principalement pour la recherche et à des fins épidémiologiques, sont les plus sensibles et précis. Elles permettent d'identifier les espèces et les génotypes. Les génotypes sont génétiquement identifiables, les isolats uniques qui n'ont pas reçu le statut taxonomique de l'espèce, bien que plusieurs génotypes aient atteint le statut de l'espèce après des données suffisantes qu'ils avaient accumulé. Il n'y a pas de gène standard recommandé pour l'identification des espèces.

Après l'extraction de l'ADN des oocystes récupérés dans les selles ou même de ceux raclée à partir de lames de microscope colorées séchées (Amar et al., 2001), les méthodes basées sur la réaction de polymérisation en chaîne sont utilisées pour amplifier des gènes spécifiques. Des fragments de la petite sous unité (PSU).ADNr (ARNr 18S), suivie de la PPOC (gène de la protéine de la paroi de l'oocyste), HSP-70, et les gènes d'actine sont utilisés le plus fréquemment. Ces fragments sont soumis à un ou l'autre du polymorphisme de restriction des procédés dans lesquels une collection de fragments d'ADN de longueur définie sont séparés par électrophorèse, avec des fragments plus petits migration plus loin que les fragments plus gros et la création d'un motif reconnaissable, ou par séquençage des fragments de gènes et la comparaison de paires de bases avec des séquences connues. Pour le sous-typage de *C. parvum*, principalement pour les enquêtes épidémiologiques, le gène GP-60 est utilisé (Xiao et al., 2007) .

2.8 Traitement :

2.8.1 Traitement spécifique :

Il n'y a pas de vaccins approuvés pour la prévention de la cryptosporidiose et même si les anticorps peuvent être trouvés dans le colostrum bovin ils sont à des niveaux qui ne permettent pas la protection contre la cryptosporidiose chez les veaux qui reçoivent ce colostrum (Harp et al., 1989). Lorsque les vaches ont été expérimentalement vaccinées pour produire du colostrum contenant des niveaux très élevés d'IgG1, IgM et IgA et les veaux nouveau-nés qui ont été nourris avec ce colostrum et ont été infectés expérimentalement avec

des oocystes de *C. parvum*, les veaux avaient significativement moins de diarrhée et excrétaient des oocystes moins de temps que les veaux nourris avec du colostrum de vaches qui n'ont pas été hyperimmunisés. (Fayer et al., 1989). Mais parce que la prophylaxie ou le traitement de la cryptosporidiose nécessite des titres élevés d'anticorps de *C. parvum* spécifiques dans la lumière de l'intestin pendant une période suffisamment longue, et en raison de multiples injections d'oocystes hautement purifiées sont nécessaires pour susciter une forte réaction d'immunoglobuline, la production et l'utilisation de ce traitement partiellement efficace est irréalisable et trop cher. Les progrès dans le domaine de la chimiothérapie pour la cryptosporidiose a été lente, peut-être en raison de la position unique de ce genre qualifiée d'intracellulaire extracytoplasmique au niveau des cellules épithéliales de la muqueuse. Aucune molécule n'a prouvé une efficacité constante concernant l'excrétion des oocytes, ni le traitement de la diarrhée associée chez le veau. Parmi les médicaments testés, nitazoxanide (NTZ), halofuginone, paromomycine, décoquinate, lasalocid et sulfaquinoxaline avaient une activité démontrable ou partielle contre l'infection par *C. parvum* chez les ruminants (Stockdale et al., 2008).

Nitazoxanide (Alinia, Romark laboratoires, FL) s'est avéré efficace pour le traitement de la cryptosporidiose chez les patients humains immunodéprimés et immunocompétents en réduisant l'excrétion des oocystes et la sévérité de la diarrhée (Rossignol, 2006). C'est la seule drogue approuvée pour le traitement du cryptosporidiose chez les adultes et les enfants. Chez les chevreaux expérimentalement infectés, NTZ a réduit l'excrétion d'oocystes et a réduit la sévérité de la diarrhée bien que certains des enfants soient morts de la toxicité de la drogue (Viel et al., 2007). Tandis que dans une autre étude l'utilisation prophylactique et thérapeutique de NTZ chez les veaux n'a pas montré un effet positif sur le cours de l'infection par *C. parvum* soit à réduire la gravité clinique ou sur l'excrétion des oocystes (Schnyder et al., 2009). La forme commercialisée du produit NTZ n'est pas autorisée pour l'utilisation chez les bovins.

Halofuginone (Stenorol ND, Intervet, Millsboro, DE) une quinazolinone synthétique, a reçu des rapports positifs provenant d'études sur le traitement des veaux de boucherie (Lallemond et al., 2006), les veaux laitiers (Villacorta et al., 1991 ; Klein, 2008), en réduisant le nombre d'oocystes de *C. parvum* excrétés et dans la réduction de la sévérité de la diarrhée. La toxicité a été rapportée dans l'étude chez l'agneau. Halofuginone est disponible au Canada sur une base d'urgence seulement, mais n'est pas disponible aux États-Unis.

La paromomycine (Humatin, Pfizer, New York), un antibiotique aminoglycoside, qui a empêché l'infection chez les enfants au cours de la période d'administration du médicament et peut-être permis le développement d'un taux minime d'oocystes indétectable, , qui a induit une immunité partielle pour lutter contre l'infection dans sa forme asymptomatique pour l'excrétion décelable des oocystes (Mancassola et al., 1995).

Il réduit la production d'oocystes et les signes cliniques chez les agneaux nouveau-nés, mais des effets négatifs sur la croissance avec certains dosages ont été observés (Viu et al., 2000). La paromomycine élimine l'excrétion des oocystes dans l'ensemble mais sur un veau laitier traité elle a réduit de façon significative la sévérité de la diarrhée par rapport à des témoins non traités (Fayer et Ellis, 1993).

L'azithromycine (Zithromax, Pfizer, New York) est un antibiotique macrolide, a également diminué l'excrétion d'oocystes elle a réduit la gravité des signes cliniques associés à la cryptosporidiose chez les veaux laitiers infectés naturellement en Turquie, mais il est trop cher pour une utilisation sur les fermes laitières commerciales (Elitok et al., 2005).

Décoquinate (Deccox, Alparma, NY), un coccidiostatique approuvé, était efficace pour réduire l'excrétion d'oocystes et la réduction de la diarrhée chez les chevreaux, mais n'a pas permis une meilleure prise de poids (Mancassola et al., 1997). Le traitement quotidien des veaux laitiers avec le decoquinate n'a pas affecté la production d'oocystes ou des signes cliniques associés à la cryptosporidiose (Moore et al., 2003).

Les probiotiques : une étude expérimentale des effets des probiotiques sur l'infection par *Cryptosporidium* chez les rats nouveau-nés a montré une tendance à un dégagement plus rapide des parasites chez les rats traités avec des probiotiques. Aucun effet significatif de l'administration de probiotiques a été observée en termes de gain de poids, charge parasitaire, lésions des muqueuses ou cinétique de cytokines muqueuse au cours de l'infection. Dans l'ensemble, les résultats ont montré que l'administration quotidienne de *L. casei* contenant un mélange a été incapable d'éradiquer le parasite dans le modèle de rat nouveau-né (Guitard et al., 2006)

2.8.2 Traitement non spécifique :

En raison des maigres résultats obtenus avec les molécules existantes, le traitement symptomatique s'impose et est en général analogue à celui des autres diarrhées néonatales (Chartier, 2003 ; Khelef, 2007).

2.8.2.1 La réhydratation :

Elle dépend du degré de déshydratation et de la capacité de la muqueuse intestinale à absorber des liquides, de ce fait elle peut être soit orale ou parentérale. Il n'existe pas de méthode idéale d'évaluation de la déshydratation. En effet, une mesure ponctuelle du poids du veau, de son hématoците avec une centrifugeuse ou de ses protéines sériques totales avec un réfractomètre ne prend toute sa signification que si l'on dispose pour comparaison de la valeur de ces paramètres avant que le veau ne commence sa diarrhée. Or, ces valeurs sont très rarement disponibles chez les veaux sains. De plus, un veau peut se déshydrater sans perdre de poids, en séquestrant du liquide dans son tube digestif par exemple. La fourchette de normalité fort large de l'hématoците (22 à 45%) et des protéines totales (60 à 80 g/L) rend ces paramètres assez peu sensibles. Sans compter que d'importantes variations de ces paramètres indépendantes de la déshydratation peuvent survenir. Par exemple, la concentration des protéines totales peut varier fortement en fonction du transfert passif de l'immunité colostrale dont le veau a bénéficié.

Pour réhydrater un veau, le principe est de restaurer les déficits mais aussi de subvenir aux besoins d'entretien et aux pertes encore à venir. Le déficit existant se calcule tout simplement en multipliant le % de déshydratation par le poids vif du veau. Les besoins d'entretien s'élèvent à 50 ml par Kg et par jour tandis que les pertes à venir sont assez variables de 20 à 80 ml par Kg et par jour (Roussel et Kasari, 1990).

2.8.2.1.1 Voie orale ou parentérale ?

La première question que l'on doit se poser est de savoir sur quel mode - oral ou parentéral - jouer la partition. La règle édictée tout à l'heure, selon laquelle un veau réclame une perfusion quand son pourcentage de déshydratation dépasse 8 %, doit être accompagnée de nombreuses exceptions. Ainsi, pour pouvoir être réhydraté efficacement par voie orale, le veau doit aussi avoir conservé son réflexe de succion, ne pas présenter d'iléus paralytique et ne pas souffrir d'une acidose sévère. Le veau sera par contre avantageusement traité par voie parentérale s'il s'aggrave rapidement ou s'il combat un syndrome de maldigestion - malabsorption avancé. Parfois, pour limiter le coût du traitement, certains réhydratent des veaux diarrhéiques à la sonde quand ils refusent de boire. Cette pratique n'est pas trop préjudiciable à la condition que le veau ne soit pas en état de choc ou en iléus paralytique. Néanmoins, il convient de bien garder à l'esprit que la solution de réhydratation orale (SRO) administrée de cette façon aboutira dans le rumen. En conséquence, le glucose ou le lactose présent dans toutes les SRO y sera fermenté avec production de L- et D-lactate et développement d'une acidose du rumen.

2.8.2.2 Correction de l'Acidose.

Une fois le BD déterminé, que ce soit cliniquement ou à l'aide des moyens de laboratoire disponibles, les besoins en bicarbonate en millimoles peuvent être calculés en multipliant le BD par le poids vif (PV) du veau et par un facteur de 0.6 qui correspond au volume de distribution du bicarbonate chez le veau ($BD\ total = PV \times BD \times 0.6$). Un veau de 50 Kg avec un déficit en base de 20 millimoles nécessite donc 600 millimoles de bicarbonate ou d'équivalent pour corriger son acidose.

Il reste alors à choisir la substance alcalinisant la plus appropriée parmi celles qui sont disponibles. Le point fort du bicarbonate administré par voie parentérale provient du fait qu'il peut opérer une correction immédiate de l'acidose parce qu'il n'a pas besoin d'une métabolisation pour exercer son effet alcalinisant. Il est aussi l'alcalinisant le meilleur marché. Par voie orale, le bicarbonate augmente le pH de la caillette de façon durable et entrave ainsi le mécanisme physiologique de digestion du lait (coagulation du lait de vache dans la caillette).

En ce qui concerne le lactate, rappelons que seul l'isomère L est métabolisé correctement par le foie. Or, de nombreuses préparations commerciales à base de lactate contiennent un mélange racémique des deux isomères (D et L). Un autre désavantage est que la fonction et la perfusion hépatiques sont absolument nécessaires à sa métabolisation. De plus, la perfusion de solutions contenant du lactate peut aggraver les cas d'acidose lactique rencontrés chez les veaux âgés de moins de 7 jours.

L'acétate, quant à lui, a l'avantage d'être métabolisé par de nombreux tissus périphériques tels que le cœur, les muscles squelettiques, le tissu graisseux et le foie. En état de choc, il est tout de même métabolisé plus lentement étant donné que les tissus périphériques sont moins bien perfusés.

Le propionate est, quant à lui, presque exclusivement métabolisé par le foie. L'acétate, le propionate et le lactate ne perturbant pas la formation du caillot de lait dans la caillette, ils sont particulièrement recommandés par voie orale (Naylor, 1992).

2.8.2.3 Correction de l'hypoglycémie :

Chez un veau faible, léthargique, qui montre éventuellement des signes nerveux comme le coma, des convulsions et de l'opisthotonos, l'hypoglycémie peut être suspectée. La détermination de la glycémie au moyen d'un glucomètre portable trouve tout son intérêt vu que les signes ne sont pas pathognomoniques.

Ces perfusions de glucose sont nécessaires surtout pour les veaux qui présentent de l'acidose métabolique très avancée et ceux présentant un amaigrissement suite à un syndrome de maldigestion-malabsorption prolongé. Dans les cas extrêmes il peut être utile de passer à la transfusion et/ou de passer à une nutrition parentérale partielle combinant l'administration orale de colostrum et la perfusion d'acides aminés et d'énergie sous la forme de glucose et, éventuellement, de lipides (coût plus élevé).

2.8.2.4 Régime alimentaire :

Le maintien ou non de l'alimentation lactée pendant la diarrhée, reste un autre fameux sujet de polémique. Arrêter le lait paraît l'hypothèse la plus évidente, les auteurs qui soutiennent cette hypothèse, donnent certains arguments :

- amélioration plus rapide de la consistance des matières fécales.
- laisser le tube digestif au repos pour se réparer.
- diminution de la sévérité de la diarrhée osmotique.

Les auteurs qui soutiennent le maintien du régime lacté, on essayer de donner des contre réponse à ces arguments :

- amélioration plus rapide de la consistance des matières fécales : il ne s'agit en réalité que d'une guérison apparente et non effective et la preuve étant les rechutes observées lors de la reprise du régime lacté.
- laisser le tube digestif au repos pour se réparer : la baisse d'appétit généralement observée chez les veaux au tout début de la diarrhée remplit naturellement ce rôle.
- la diminution de la sévérité de la diarrhée osmotique : C'est vrai mais ce résultat est obtenu au prix d'une malnutrition dont les effets délétères ont des conséquences plus fâcheuses pour le veau que le prolongement dans le temps de sa diarrhée.

De plus ces auteurs avancent d'autres arguments pour soutenir le maintien du régime lacté.

- les entérocytes utilisent en partie les nutriments présents dans la lumière intestinale pour leur régénération.
- le lait peut toujours être digéré de façon adéquate en dépit d'une certaine perte de capacité digestive (réserve digestive considérable chez le veau) (Nappert et al., 1993).
- Le maintien de l'alimentation lactée chez des veaux diarrhéiques leur permet de continuer leur croissance malgré la diarrhée.
- la prise de poids est le meilleur témoin de l'amélioration de l'état général du veau.
- meilleur état général.
- meilleure régénération de leur muqueuse intestinale.
- Moindre atrophie de leur thymus.
- amélioration de leur symptomatologie.
- ne pas séparer le veau de sa mère (en élevage allaitant).

2.8.2.5 Traitement adjuvant :

Un pansement intestinal peut être donné (kaolin, etc.), afin de diminuer l'absorption des toxines, limiter les pertes hydriques, ralentir le transit et protéger la muqueuse pour favoriser la cicatrisation. Les probiotiques tels que *Lactobacillus* ou d'autres ferments lactiques peuvent être aussi administrés afin d'améliorer la digestion et l'hygiène intestinale. Enfin on peut donner des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) pour limiter la production des médiateurs de l'inflammation et réduire les sécrétions intestinales. Une supplémentation minérale et vitaminique peut être conseillée pour augmenter les défenses immunitaires du veau (Ravary et Sattler, 2006).

2.9 Prophylaxie :

Les mesures préventives sont de loin l'approche la plus efficace pour lutter contre ce parasite.

2.9.1 Mesures de prévention de la contamination animale.

Le traitement des animaux doit être une des voies de la réduction de la contamination environnementale. De nombreux facteurs contribuent à la survenue de diarrhées dans le premier mois de vie des animaux et doivent être améliorés pour réduire la pression d'infection.

2.9.1.1 Gestion du troupeau :

Les veaux doivent être élevés en boxes individuels jusqu'à l'âge de 2 à 3 semaines et ensuite regroupés en lots du même âge. Or, cette mesure de prévention est difficilement applicable dans les élevages allaitants. Les programmes de vaccination doivent être à jour car la mortalité est plus importante lors de co-infection avec d'autres enteropathogènes.

La gestion des animaux malades est un point crucial du contrôle de la propagation de la maladie. Les animaux malades sont immédiatement placés dans des locaux séparés des autres nouveau-nés ; si possible dans des bâtiments différents. Les éleveurs veilleront à toujours s'occuper des animaux sains avant des malades et à ne pas véhiculer d'oocystes par leurs bottes ou leurs vêtements (Harp et Goff, 1998).

2.9.1.2 Alimentation :

Les carences alimentaires en fin de gestation augmentent le taux de morbidité et de mortalité à la naissance. L'éleveur contrôle que chaque animal ait bien reçu une quantité suffisante de colostrum et que l'apport nutritionnel soit adapté surtout lors d'allaitement artificiel.

2.9.1.3 Hygiène des locaux :

L'hygiène de l'élevage est maintenue à un niveau élevé. Le nettoyage des maternités et des boxes des nouveau-nés doit faire l'objet d'une attention particulière. Les bâtiments doivent être nettoyés à l'eau bouillante sous pression et désinfectés. Dans la mesure du possible un vide sanitaire doit être respecté, au moins le temps de permettre un séchage complet des bâtiments car les oocystes sont sensibles à la dessiccation.

2.9.1.4 Pollution de l'eau imputable à l'élevage :

A cause de la très forte prévalence de l'infection chez les veaux, le cheptel bovin est fréquemment montré du doigt par les autorités sanitaires comme étant la principale source de contamination de l'eau.

2.9.1.4.1 Modalités :

L'eau peut être souillée par des fèces animales de plusieurs manières : les eaux au contact du fumier ; les eaux ayant servi à nettoyer les bâtiments des veaux ; les eaux de ruissellement qui s'écoulent des pâtures... peuvent se déverser dans les cours d'eaux proches des élevages et constituer des sources de pollution pour les rivières qui recueillent ces eaux.

Les animaux peuvent avoir un accès direct aux cours d'eaux pour leur abreuvement et déféquer librement dans l'eau. Un bovin adulte produit environ 30 kg de fèces par jour (Hoar et al., 1999) ; cette matière fécale, potentiellement contaminée, est déposée sur les pâtures, voire directement dans l'eau et représente une source de contamination pour l'environnement. Pour qu'une quantité conséquente d'oocystes atteigne les ruisseaux, il faut que la source de la pollution s'écoule directement dans le cours d'eau (Atwill et al., 1999). En dehors de la défécation directe dans l'eau, les eaux de ruissellement qui s'écoulent des prés occupés par les

veaux sont capables de transporter des oocystes jusqu'aux cours d'eaux. Au printemps, dans nos régions tempérées, lorsque les animaux excréteurs sont au pâturage, de violents orages peuvent créer de véritables ruisseaux au milieu des champs surtout après une saison pluvieuse lorsque le sol est imbibé d'eau. Etant donnée l'importance de l'excrétion chez les jeunes, le risque de contamination des eaux imputable aux animaux est limité dans le temps à la saison qui suit les vêlages (Atwill et al., 1999) ; si les vêlages sont regroupés dans le temps, cette période à risque est donc assez limitée dans le temps. Une étude montre l'association entre cette saison, où les jeunes sont au contact des sources hydriques, et l'augmentation du taux d'oocystes dans le ruisseau en aval du troupeau. Ce niveau d'oocystes revenant à une valeur plus faible après quelques mois.

Les ruminants adultes qui excrètent de façon quasi généralisée mais insidieusement car ils n'expriment pas de symptômes contribuent de façon importante à la contamination de l'eau.

Les eaux usées qui s'écoulent des exploitations d'élevage ou des lieux de pâturage sont des vecteurs potentiels d'oocystes. Plus que les eaux, le fumier, stocké sans traitement ni précaution et abandonné aux eaux de pluies, constitue un véritable risque de contamination. Des eaux de surface provenant d'une part d'eaux d'élevage ou d'autre part d'eaux d'égouts d'origine humaine ont été comparées. La concentration en oocystes était 1,5 à 1,9 fois plus élevée pour les eaux polluées par les exploitations d'élevage (Smith et Rose, 1998). Dans une autre ferme, avec un passé de cryptosporidiose, on estime que 550 oocystes/litre d'eau usagée sont déversés dans les cours d'eaux (Slifko et al., 2000). Le bassin hydrographique est le bassin des eaux de surface. Les eaux de surface s'écoulent à la surface du sol par ruissellement puis par formation de ruisseaux. Cet écoulement de surface assure un transport mécanique des particules du sol. L'eau est en effet un agent d'érosion mécanique d'une force considérable. Ce ruissellement aboutit directement et rapidement dans les rivières où il constituera, après traitement, une ressource en eau pour la consommation humaine. L'autre alternative pour les ressources en eaux est le captage des eaux souterraines. La majorité de l'eau s'infiltre à travers les différentes couches du sol au profit de la nappe souterraine. Les eaux de surface sont une ressource en eau irrégulière dans le temps soumise aux aléas du climat : crues, orages, sol imbibé d'eau rendant l'infiltration impossible (Castany, 1980).

2.9.1.4.2 Comment éviter la contamination de l'eau :

2.9.1.4.2.1 Par l'animal :

Mesures de lutte contre la contamination imputable aux bovins (Atwill et al., 1999).

- Réduire l'incidence et l'intensité de l'excrétion
- Réduire le nombre d'animaux au contact direct des sources d'eau
- Réduire le nombre d'animaux dans le bassin hydrographique
- Réduire la viabilité des oocystes avant leur contact avec les sources d'eau
- Regrouper les vêlages et gérer les eaux sales et le fumier

Si on compare deux bassins hydrographiques voisins, très proches topographiquement mais gérés de façon différente, on remarque l'importance de la conduite d'élevage dans la contamination de l'eau (cas de *Giardia* spp). Le niveau de contamination est significativement plus élevé dans le bassin où les ruisseaux traversent des propriétés privées où l'on pratique l'élevage intensif de veaux et où les animaux se promènent librement près des ruisseaux. En revanche, dans le bassin adjacent, l'accès des animaux aux ruisseaux est réglementé et leurs lieux de pâture sont gérés avec soin. Dans les deux cas, les bovins sont excréteurs de *Giardia* sp, mais dans le second bassin la contamination animale des eaux de surface est réduite à son minimum par des pratiques d'élevage adaptées (Ong et al., 1996).

2.9.1.4.2.2 : Par l'homme :

Les pollutions d'origine humaine de l'eau sont plus fréquentes qu'on ne le pense en matière de cryptosporidiose et les mesures de lutte doivent être adaptées, en particulier lorsque le génotype humain est impliqué. Les mesures visant à éloigner les animaux et leurs éleveurs des grandes métropoles seront sans effet sur la prévention de la cryptosporidiose dans tous les cas où l'homme est à l'origine de la pollution hydrique. La lutte contre la transmission de la maladie à l'homme ne doit pas se tromper de cible en attribuant systématiquement au bétail les cas de contaminations de l'eau (Peng et al., 1997). Les mesures de prévention concernent alors le traitement des eaux usées, éviter que ne déborde le tout-à-l'égout, éviter la contamination fécale de l'eau.

2.9.2 Comment éviter la contamination de l'homme :

2.9.2.1 Par l'animal :

La contamination directe de l'animal à l'homme est facilement maîtrisable car les situations à risque sont peu nombreuses excepté pour les personnes travaillant avec les animaux comme les éleveurs, les vétérinaires ou les personnes en contact avec les matières fécales dans un laboratoire par exemple.

2.9.2.2 Par l'eau :

L'absence d'oocystes dans l'eau n'est pas une garantie de sûreté de l'eau car bien souvent les oocystes sont indétectables par les techniques traditionnelles. La filtration traditionnelle de l'eau du robinet ne permet pas de se débarrasser du risque de cryptosporidiose. Bien que la plupart des eaux en bouteille filtrées satisfassent à la norme standard, les personnes à risque doivent s'assurer que l'eau qu'ils utilisent est sûre. Les filtres adaptés doivent être certifiés pour la rétention des oocystes et le diamètre des pores ne doit strictement pas dépasser 1 micron.

Faire bouillir l'eau de consommation au-delà de 65°C est le moyen le plus efficace pour inactiver les oocystes de *Cryptosporidium*.

Une directive européenne exige que l'eau destinée à la consommation humaine ne contienne pas de microorganismes et parasites pathogènes dans des proportions constituant un danger pour la santé (Smith et Rose , 1998). Il est impossible de garantir l'absolue sûreté de l'eau du robinet. C'est pourquoi les personnes sévèrement Immunodéprimées, pour lesquelles la cryptosporidiose peut mettre en danger leurs vies, doivent être orientées vers une stérilisation permanente de leur eau (Byleveld et al., 1999) .

2.9.2.3 Eviter les comportements à risque :

De nombreuses recommandations ont été données dans le but de prévenir la transmission des oocystes au sein des hôpitaux, laboratoires, élevages... Aux Etats-Unis, le CDC (Centers for Disease Control and Prevention) et le NCID (National Center for Infectious Disease) préconisent des mesures pour prévenir la contamination chez les personnes immunodéprimées (Centers for Disease Control and Prevention).

Ces mesures visent à réduire le contact avec les sources de l'infection et à mettre en œuvre des processus de désinfection adaptés. Elles sont dictées par le bon sens et par une connaissance minimale du mode de transmission du parasite. Les personnes malades doivent

être confinées dans des lieux isolés et régulièrement désinfectés. Les personnes à risque doivent éviter tout contact direct ou indirect avec les malades. Ces personnes doivent également être informées de tous les comportements à risque pouvant conduire à leur contamination. Elles doivent se laver les mains avec du savon après chaque passage aux toilettes, avant de préparer à manger et de passer à table, après avoir jardiné ou toucher un animal, après s'être occupé d'un enfant en bas âge... Elles doivent également faire bouillir leur eau et utiliser l'eau bouillie pour boire, cuisiner, laver les aliments et faire des glaçons

Deuxième partie : étude expérimental

1 Objectifs

L'objectif de l'étude est la recherche d'oocystes de *Cryptosporidium* chez les veaux diarrhéiques et non diarrhéiques âgés entre 0j et 3mois au niveau de quelques régions d'Alger, Blida et Tipaza en utilisant la méthode de concentration de Ritchie modifiée par Allen et Ridley puis la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée. .

L'autre objectif est la détermination de la fréquence d'excrétion des oocystes en fonction de certains paramètres tels, l'âge, l'hygiène de l'élevage, la saison, la séparation ou non du veau de sa mère juste après la naissance, la prise colostrale du veau (moment, quantités), le déroulement des naissances, l'alimentation

2 Matériel et méthodes

2.1 Matériel

2.1.1 Elevages

Le travail a concerné les élevages de certaines régions du centre du pays à savoir (Alger, Blida et Tipaza).

Alger : une seule localité a été concernée par l'étude, il s'agit de Zeralda.

Une ville côtière située à l'ouest d'Alger, un seul élevage a été choisis pour l'étude, il s'agit d'un élevage composé de 110 bovins, tout âge et sexe confondus, constitué d'un mélange de trois races (Holstein, Simmental et Montbéliard).

La stabulation est de type semi entravée, l'alimentation est constituée de fourrage vert en période humide (hiver, printemps) et de fourrage sec (automne, été), associer à un concentré, mélangé in situ, constitué d'un mélange de soja, maïs, orge et son auxquelles est rajouté un complément minéralo-vitaminique. On note un bon suivi de la reproduction au sein de cet élevage (détection des chaleurs par l'ouvrier, insémination artificielle assurée par le vétérinaire, présence de registre de suivi des vêlages et des inséminations). La présence d'un box de vêlage avec un paillage suffisant renouvelé à chaque vêlage, a été constatée, ainsi que

la présence de boxes individuels pour les veaux qui sont maintenues avec leurs mères pendant 3 ou 4 jours avant de rejoindre les boxes.

La vaccination contre les rotavirus, coronavirus et E. coli est pratiquée selon un protocole défini par le vétérinaire traitant, utilisant un vaccin trivalent de l'institut Meriel «TRIVACTON 6 ».

Le rythme de la vaccination a été recommandé par le fabricant, à savoir ; Voie sous-cutanée.

1 dose de 5 ml par animal selon les modalités suivantes :

Primovaccination

1ère injection : 1 à 2 mois avant la mise bas.

2ème injection :

Vaches allaitantes : le jour de la mise bas ou les 3-4 jours qui précèdent.

Vaches laitières : les jours qui précèdent la mise bas.

Rappels

Vaches allaitantes : 1 injection le jour de chaque mise bas ou les 3-4 jours qui précèdent.

Vaches laitières : 1 injection 10 à 15 jours avant chaque mise bas.

Agiter avant l'emploi.

Respecter les conditions habituelles d'asepsie.

Utiliser pour l'injection du matériel stérile et dépourvu de toute trace d'antiseptique ou de désinfectant.

Le colostrum est distribué juste après la naissance (avant 6H) à des quantités qui varient entre 2L et 4L

Dans cet élevage 70 prélèvements partir de matière fécale de veau, ont été effectués durant l'étude.

Tipaza : trois localités ont été choisies pour l'étude, et dans chaque localité un seul élevage a été choisi, il s'agit de Kolea, Htatba et Hadjout, un effectif global de 140 vaches laitières constituées essentiellement des races Holstein, Simmental et Montbéliarde. Deux élevages, celui de Htatba et Hadjout sont en stabulation libre, alors que celui de Kolea, est en semi-entravée.

L'alimentation est la même que pour l'élevage d'Alger mais dans ce cas le concentré est acheté directement chez des fabricant d'aliment.

Un des trois élevages possède un box de vêlage et des boxes individuels pour les veaux ; les veaux sont séparés de leur mères juste après la naissance, le colostrum est distribué juste après la naissance à la bouteille à des quantités qui varient entre 1L et 3L selon l'appétit du veau.

Aucun programme vaccinal n'a été instauré dans ces élevages.

Durant l'étude, 86 prélèvements de matière fécale de veau ont été récoltés à partir de ces élevages

Blida : un seul élevage, situé dans la localité de Bénétiama a été choisi pour l'étude. L'élevage est constitué de 125 bovins tout âge et sexe confondus, composés essentiellement de Holstein et de Montbéliard, l'alimentation est identique à celle des autres régions, la stabulation est de type semi-entravée, il n'y a pas de box de vêlage, alors qu'il y a présence des boxes individuels pour les veaux qui sont séparés de leur mères juste après le vêlage. La prise colostrale intervient juste après le vêlage à des quantités qui varient entre 1L et 3L selon l'appétit du veau. Aucune vaccination des vaches n'a été instaurée. Le nombre de prélèvements dans ce cas a été de 67 prélèvements de fèces de veaux. Au total 223 prélèvements ont été effectués durant la période qui s'est étalée de janvier 2013 à juillet 2013. Un seul prélèvement par individu a été réalisé durant la durée de l'étude.

2.1.2 Matériel de laboratoire

2.1.2.1 Technique de Ritchie modifiée

Pour la technique de Ritchie modifiée, le matériel suivant a été utilisé :

- Verres à pied conique
- Agitateur en verre
- Balance électrique
- Pissette
- Pipette pasteur
- Tubes coniques en plastique avec bouchon (pour centrifugation)
- Centrifugeuse
- Eau formolée à 10% (100ml de formol pur dans 900ml d'eau distillée)
- Ether diéthylique

2.1.2.2 Coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz :

Pour la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée le matériel suivant a été utilisé :

- Lames bien dégraissées (avec mélange d'alcool et d'éther)
- Bacs à coloration
- Diamant (identification des lames)
- Porte lame (nécessaire pour l'immersion des lames dans les bacs à coloration)
- Pincettes
- Minuterie
- Microscope optique

Et pour les réactifs et autres produits :

- Eau du robinet
- Méthanol pur
- Fuchine phéniquée, préparée au laboratoire, composée de :
 - Solution A : (10ml d'un mélange de 15g de fuschine basique et de 100ml d'éthanol à 95%)
 - Solution B : (90ml d'un mélange de 5g de phénol et 100ml d'eau distillée) le mélange est laissé reposer puis filtrer avant son emploi
- Acide sulfurique à 2%, préparé au laboratoire à l'aide de 198ml d'eau distillée et 2ml d'acide sulfurique concentré
- Vert de malachite à 5% préparé avec 5g de poudre de malachite dans 100ml d'eau distillée la solution est laissée reposer, filtrée puis utilisée
- Huile à immersion

2.1.2.3 Autres matériels

- Glacière pour maintenir au frais les prélèvements jusqu'au laboratoire
- Pots en plastique stériles pour les prélèvements de matières fécales
- Gants
- Dichromate de potassium à 2,5%(conservation des prélèvements)
- Marqueur indélébile pour l'identification des prélèvements

2.2 Méthodes

2.2.1 Protocole de prélèvement

Les prélèvements de matières fécales ont été effectués dès leur émission spontanément ou après excitation de l'orifice anal, dans des pots propres pour éviter leur contamination par le

sol, les pots sont hermétiquement fermes puis identifiés après avoir ajouté une quantité équivalente de dichromate de potassium pour assurer la conservation des selles. Les prélèvements sont ensuite acheminés dans une glacière, à l'école supérieure vétérinaire d'Alger où ils sont entreposés dans un frigo à +4°C jusqu'à leur utilisation.

Chaque prélèvement identifié sur le pot est repris sur une fiche signalétique comportant toutes les informations nécessaires pour l'étude (voir fiche signalétique du veau en annexe).

Tous les veaux dont l'âge varie de 1 jour à 3 mois diarrhéiques ou non ont fait l'objet d'un prélèvement.

2.2.2 Techniques de laboratoire utilisées

Deux techniques ont été utilisées pour la réalisation de ce travail. Il s'agit de la technique de concentration de Ritchie modifiée par Allen et Ridley (Acha, 2004) et la technique de coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz. Ces deux techniques sont connues pour leur spécificité et leur sensibilité.

2.2.2.1 Technique de Ritchie modifiée par Allen et Ridley

C'est une technique polyvalente réalisée pour les prélèvements diarrhéiques ou non.

2.2.2.1.1 Principe :

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

2.2.2.1.2 Mode opératoire :

On commence généralement par déposer 2 à 3 gramme de selle dans un verre à pied à l'aide d'une curette, on rajoute un volume d'eau formolée à 10%, 2 à 3 fois supérieure à celui des selles. À l'aide d'un agitateur, on agite jusqu'à l'obtention d'une solution homogène. Pour éliminer les débris fécaux, on laisse la solution décanter quelques minutes (1 à 2 minutes). À l'aide d'une pipette, on aspire une partie du surnageant la quelle est versée dans un tube conique pour centrifugation. A ce stade on ajoute un volume d'éther correspondant au 1/3 du volume total à émulsionner. Fermer hermétiquement le tube en veillant à laisser un vide d'environ 1cm pour permettre l'émulsion. Agiter le tube vigoureusement pendant une minute, puis Centrifuger à 2500t pendant 5 minutes. Après centrifugation on remarque la présence

dans le tube de quatre couches qui sont de haut en bas : Une couche éthérée chargée en graisse, suivie d'une couche épaisse sous forme d'anneau constituée de gros débris, suivie d'une couche aqueuse, et au fond du tube, dans la partie conique, un culot dans lequel ce sont concentrés les éléments parasitaires. A ce niveau, on jette énergiquement le surnageant et on garde le culot.

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

C'est la technique de référence pour l'identification des oocystes de *Cryptosporidium*.

2.2.2.2.1 Mode opératoire

2.2.2.2.1.1 Confection du 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 Ritchie modifiée décrite auparavant.

A l'aide d'une pipette pasteur, on prélève 1 à 2 gouttes du culot de centrifugation, après une légère homogénéisation. Sur une lame bien dégraissée et numérotée 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 façon continue en zigzag, sans revenir au point de départ, on obtient alors un frottis mince à plusieurs épaisseurs, c'est le cas d'un bon frottis. Laisser sécher à l'air jusqu'à une nuit.

2.2.2.2.1.2 Fixation et coloration du frottis.

On fixe le frottis en le plongeant dans un bac contenant du méthanol pendant 5 minutes, après ce temps, on retire la lame et on la laisse sécher à l'air libre ou par agitation. Après séchage complet, la lame est émergée dans un autre bac contenant une fuschine phéniquée déjà préparée au paravent (voir matériel) pendant 60 minutes. Une fois terminée, la lame est rincée abondamment à l'eau du robinet afin d'éliminer l'excès de colorant. Une étape de différenciation commence alors, elle consiste à émerger la lame dans un autre bac contenant de l'acide sulfurique à 2% pendant 20 secondes. L'acide sulfurique va permettre la décoloration de toute la lame, sauf les oocystes qui eux vont garder la couleur de la fuschine. La lame est ensuite rincée à l'eau du robinet pour éliminer la trace du décolorant. Une étape de contre coloration va prendre le relais, en effet la lame est émergée une fois encore dans un autre bac contenant cette fois-ci une solution de vert de malachite à 5% pendant 5 minutes, le

but de cette étape est de créer un milieu de différenciation pour mettre les oocystes en évidence. Rincer comme à chaque étape pour permettre l'élimination de l'excès de contre colorant, la lame est ensuite laissée à l'aire libre ou agitée pour permettre le séchage. Une fois la lame sèche, on peut observer à l'aide d'un microscope optique, on commençant par le grossissement 40 pour une vue d'ensemble de la lame, puis passer au grossissement 100, après avoir mis une goutte d'huile à immersion, pour une éventuelle identification. Cette technique permet de visualiser nettement les oocystes de *Cryptosporidium*, qui sont colorés en rouge vif, parfois en rose claire sur un fond vert ou bleu. Ce sont des éléments ronds à ovoïdes de 4 à 6 μm de diamètre en moyenne, la paroi est épaisse, dans le cytoplasme il ya une zone centrale parfois périphérique plus claire qui correspond au corps résiduel (reliquat oocystal), et au centre ou à la périphérie des granulations noirâtres au nombre de quatre ou plus, qui correspondent aux sporozoïtes.

2.2.2.1.3 Calcule du degré d'infestation

Le calcul du degré d'infestation se fait directement au microscope optique au grossissement (x40), on utilisant la méthode semi-quantitative d'Henriksen et Krogh(Akam et al, 2002) 3 critères sont retenus: (infestation faible,+1: 1 à 4 oocyste(s)/champ, observé(s) à Gx40;infestation moyenne, +2: 5 à 10 oocystes/champ, observés à Gx40; infestation massive, +3:nombre d'oocyste > 10, observés à Gx40).

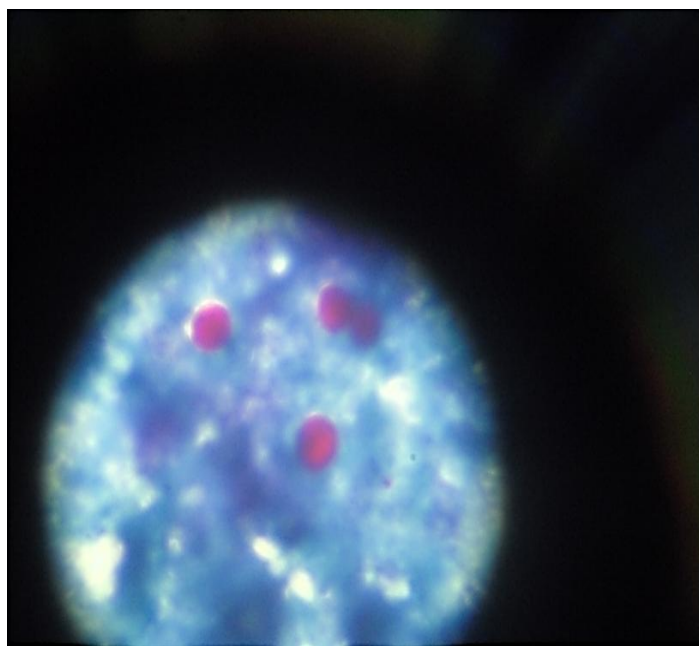


Photo 3: oocystes de cryptosporidium (Gx100+ zoom de l'appareil photo) coloré par la technique de Ziehl-Neelsen (originaux)

3 Analyses statistiques

Les résultats ont été traités statistiquement à l'aide du test "t" de student pour variables quantitatives paramétriques $n > 30$, applicable sur les moyennes, en calculant la valeur de signification p_1 unilatérale, et p_2 pour des niveaux de significations bilatéral.

4 Résultats

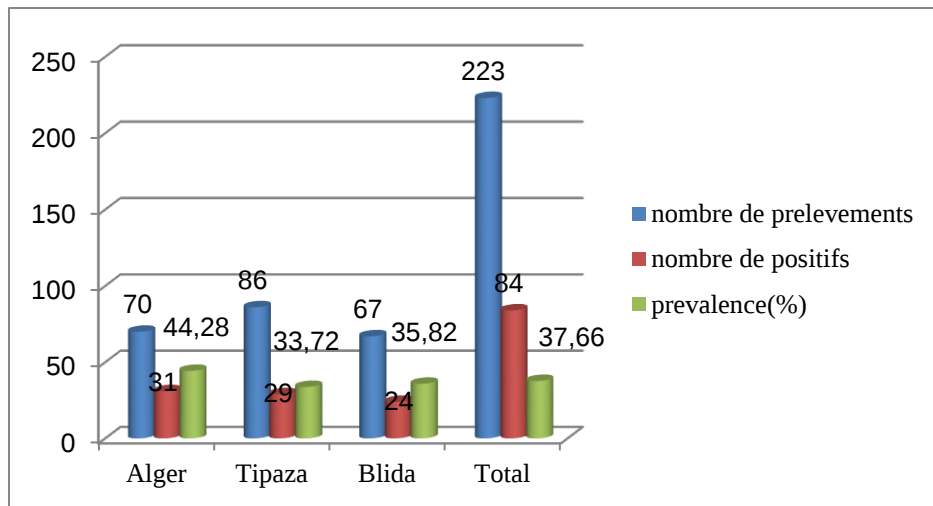
4.1 Prévalence globale de *Cryptosporidium* dans les régions d'étude

Au total, sur les 223 prélèvements analysés, 84 se sont révélés positifs (présence d'au moins un oocyste), soit une prévalence de 37,66%.

Alger connaît la plus haute prévalence avec 44,28%, suivit respectivement de Blida avec 35,82% et de Tipaza avec 33,72%.

Tableau 9 : Prévalence globale de *Cryptosporidium* dans les élevages d'études

Élevages	examens coprologiques effectués	prélèvements positifs	% des résultats positifs
Alger	70	31	44,28%
Tipaza	86	29	33,72%
Blida	67	24	35,82%
Total	223	84	37,66%



Histogramme 1 : prévalence globale de Cryptospridium dans les régions d'études

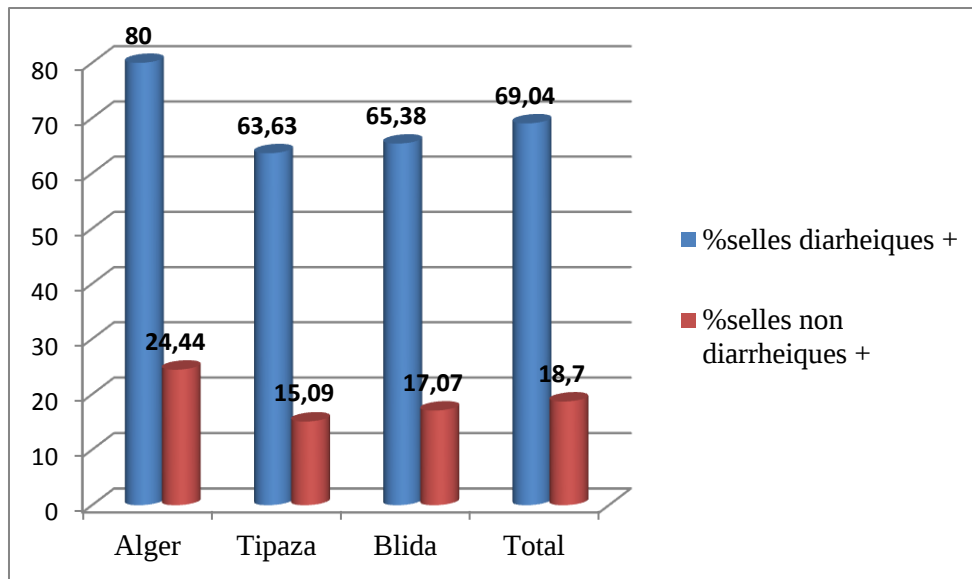
4.2 Prévalence de Cryptospridium en fonction du statut clinique

Le tableau 2 montre que l'excrétion des oocystes de Cryptospridium se fait chez les veaux diarrhéiques et non diarrhéiques. En effet sur les 223 prélèvements, 83 étaient diarrhéiques alors que 139 ne l'étaient pas. La prévalence par rapport au statut clinique (présence ou absence de diarrhée), montre que l'excrétion est plus importante chez les veaux diarrhéiques positifs (69,04%), que chez les non diarrhéiques positifs (18,70%) $p=0,029 > 0,05$. Cette différence est donc significative

Tableau 10 Prévalence de Cryptospridium en fonction du statut clinique

Elevages	examen effectués	cas positif	Total S D	Total S ND	S D +	% S D	S N D +	% S N D +
Alger	70	31	25	45	20	80%	11	24,44%
Tipaza	86	29	33	53	21	63,63%	8	15,09%
Blida	67	24	26	41	17	65,38%	7	17,07%
Total	223	84	84	139	58	69,04%	26	18,70%

SD=selles diarrhéiques, SND=selles non diarrhéiques, SD+=selles diarrhéiques contenant les oocystes, SND+=selles non diarrhéiques contenant les oocystes



Histogramme 2 : prévalence de cryptosporidium en fonction du statut clinique

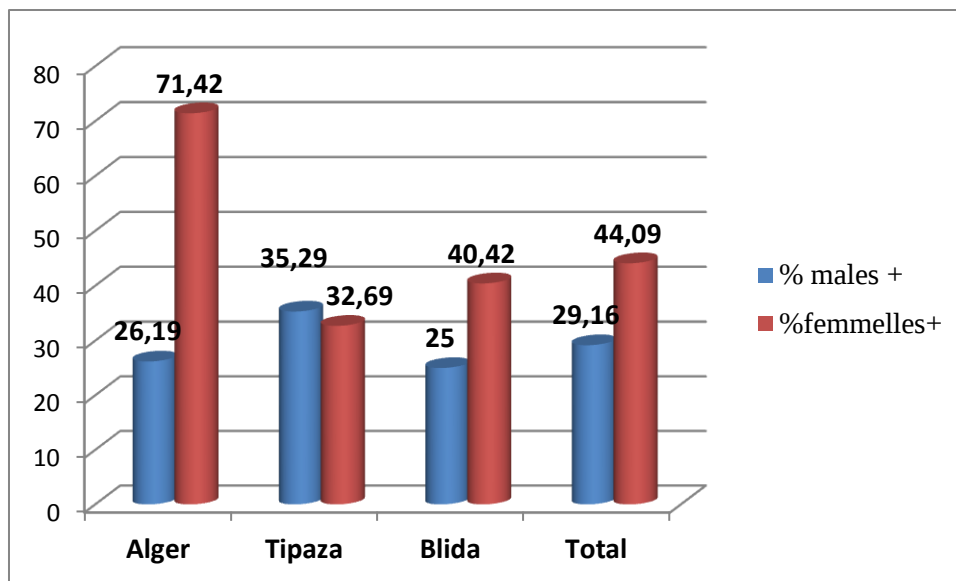
4.3 Prévalence de Cryptosporidium en fonction du sexe

Le tableau 3 montre la prévalence de Cryptosporidium en relation avec le sexe, en effet, sur les 96 prélèvements mâles, 28 se sont révélés positifs soit 29,16%, par contre chez les femelles, sur 127 prélèvements, 56 se sont révélés positifs soit 44,09%. L'analyse statistique montre une différence significative $p=0,034 < 0,05$.

Tableau 11 Prévalence de Cryptosporidium en fonction du sexe

Elevages	Prélèvements effectués	PM	PF	PM+	% PM+	PF+	%PF +
Alger	70	42	28	11	26,19%	20	71,42%
Tipaza	86	34	52	12	35,29%	17	32,69%
Blida	67	20	47	5	25%	19	40,42%
TOTAL	223	96	127	28	29,16%	56	44,09%

PM=prélèvement mâles, PF=prélèvement femelles, PM+= prélèvements mâles contenant des oocytes, PF+=prélèvements femelles contenant des oocytes.



Histogramme 3 : fréquence de Cryptosporidium en fonction du sexe

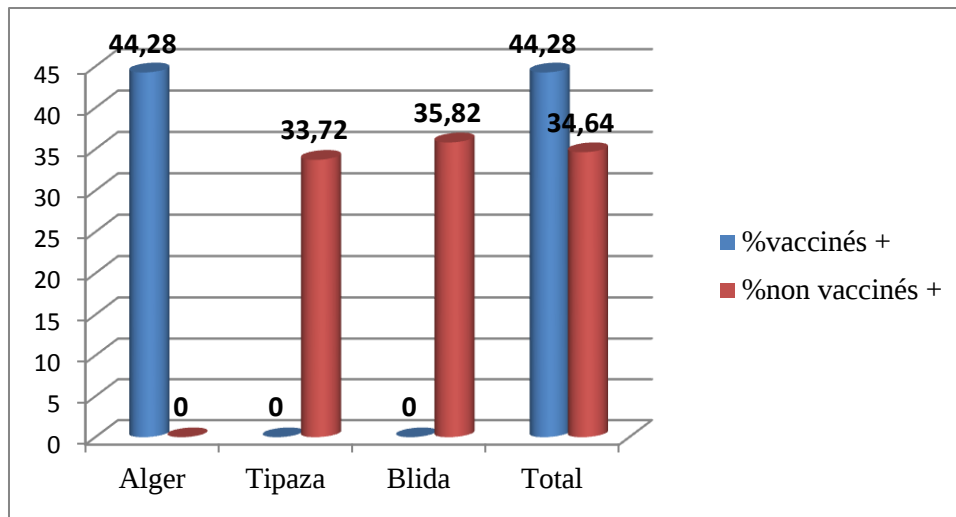
4.4 Prévalence de Cryptosporidium selon le statut immunitaire de la mère

La prévalence de Cryptosporidium en fonction du statut immunitaire de la mère (vacciné ou non contre les principaux agents de la diarrhée) montre que sur les 70 prélèvements issus de veaux dont la mère a été vaccinée, 31 sont positifs au Cryptosporidium soit 44,28%, alors que sur 153 issus de veaux dont la mère n'a pas été vaccinée, 53 ce sont révélés positif soit 34,64%.

L'analyse statistique donne une valeur de $p=0,24 > 0,05$ ce qui rend la différence non significatif.

Tableau 12 fréquence de Cryptosporidium en fonction du statut immunitaire de la mère

Elevages	prélèvements effectués	vaccinés	non vaccinés	vaccinés +	%vaccinés +	non vaccinés +	% + non vaccinés
Alger	70	70	0	31	44,28	0	0
Tipaza	86	0	86	0	0	29	33,72
Blida	67	0	67	0	0	24	35,82
Total	223	70	153	31	44,28	53	34,64



Histogramme 4 : fréquence de Cryptosporidium en fonction du statut immunitaire de la mère

4.5 Prévalence de Cryptosporidium en fonction de la prise colostrale

La prise du colostrum dans notre étude a été définie selon la présence oui ou non de certains critères en même temps :

Avec prise colostrale si les conditions suivantes ont été respectés.

- Prise du colostrum juste après la naissance (avant 6heure)
- Quantité équivalente à 10% 12% du poids du veau en 24heure

Sans colostrum si absence d'au moins un de ces critères sus cités.

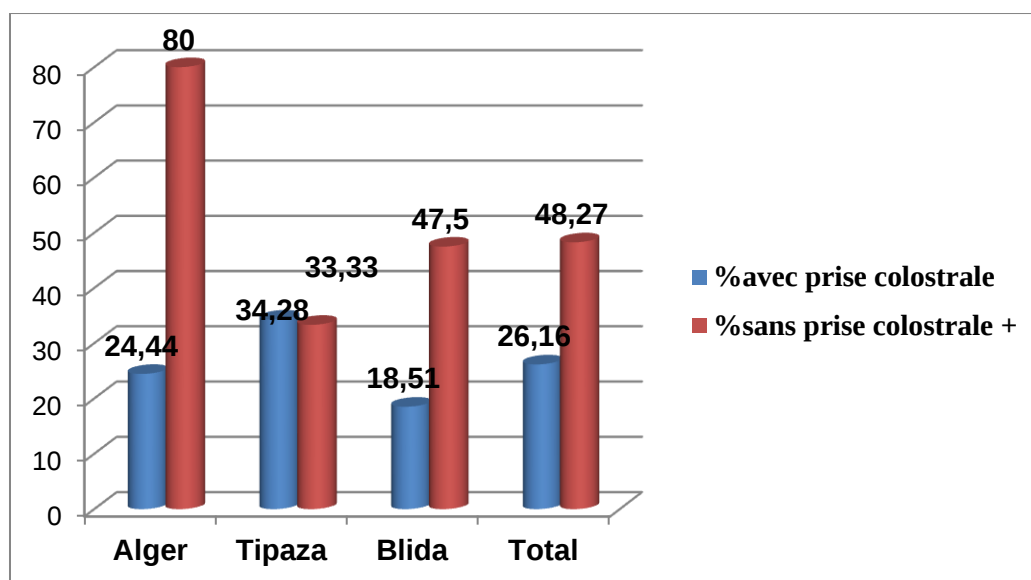
Sur les 223 prélèvements, 107 sont issus de veaux ayant pris leur colostrum les prélèvements positifs au Cryptosporidium dans ce cas ont été 28 soit (26,16%).

Alors que pour les prélèvements issus de veaux n'ayant pas pris leur colostrum, le nombre a été de 116 avec 56 positifs pour Cryptosporidium soit (48,27%).

$P=0,03 < 0,05$ la différence est donc significative.

Tableau 13 Fréquence de Cryptosporidium en fonction de la prise colostrale

Elevages	prélèvements effectués	avec prise colostrale	sans prise colostrale	avec prise colostrale +	% avec prise colostrale	Sans prise colostrale +	%sans prise colostrale
Alger	70	45	25	11	24,44%	20	80%
Tipaza	86	35	51	12	34,28%	17	33,33%
Blida	67	27	40	5	18,51%	19	47,50%
Total	223	107	116	28	26,16%	56	48,27%



Histogramme 5 prévalence de Cryptosporidium en fonction de la prise colostrale

4.6 Prévalence de Cryptosporidium en fonction de l'âge

Les tranches d'âge choisis aléatoirement, ont montrés une évolution croissante puis décroissante, de l'excrétion cryptosporidienne (courbe 1).

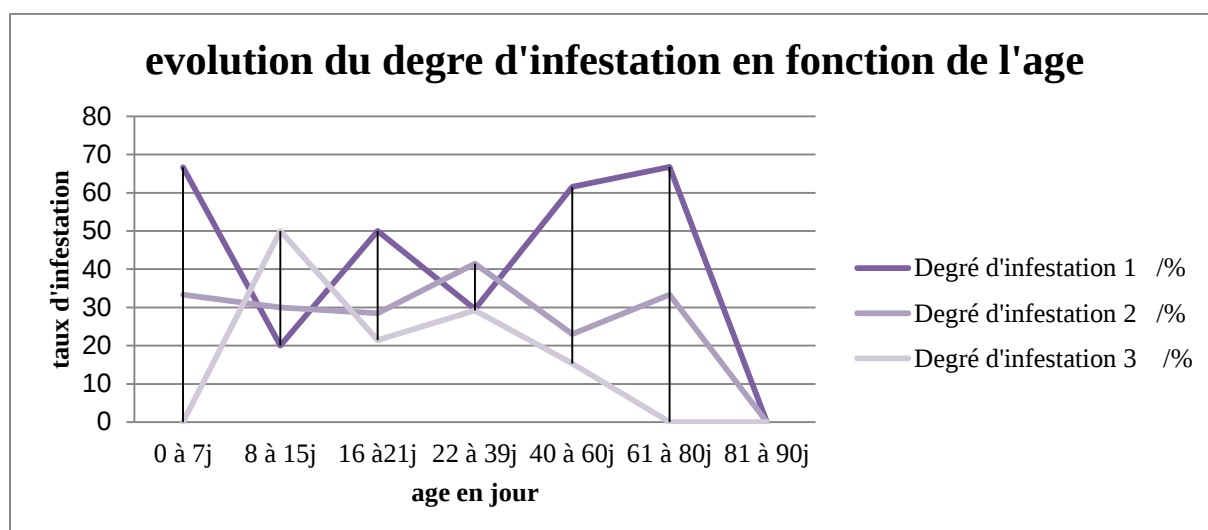
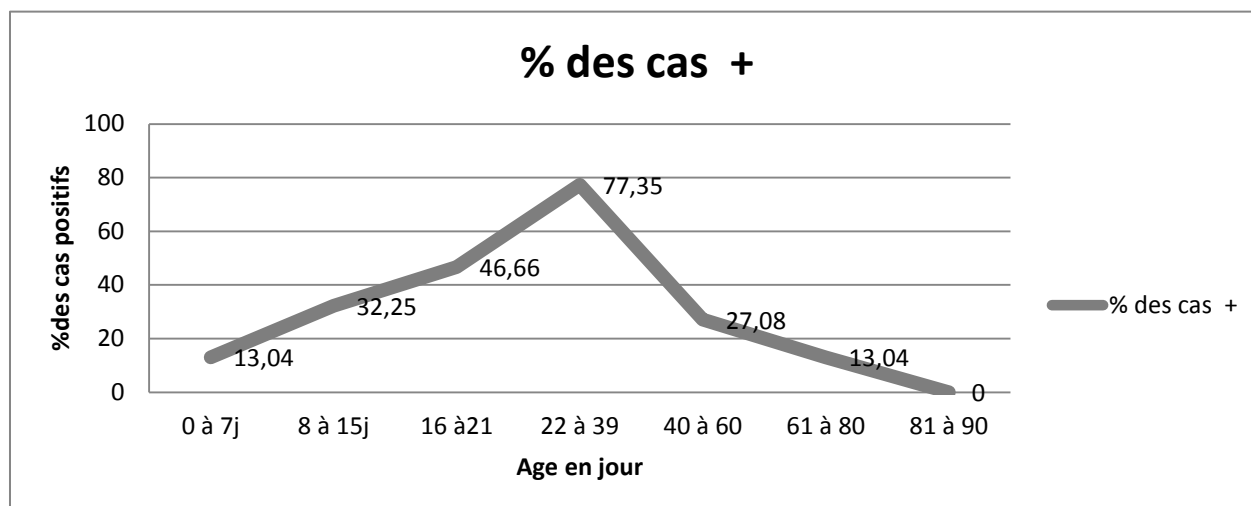
En effet dans la tranche (0-7) la prévalence a été de 13,04%, puis elle augmente à 32,25% dans la tranche (8à15), 46,66% dans la tranche 16à21j. Le pic de 77,35% est atteint entre 22 à 39j, A partir de 40j le taux connaît une décroissance, en effet il avoisine les 27,08% entre 40 à 60j, il continue à chuter entre 61à 80j ou il atteint des valeurs de 13,04%, enfin absence d'oocystes vers 81à 90j

Pour le degré d'infestation, on note que dans la tranche 0 à 7j le plus grand pourcentage est situé au degré +2 (66,7%) , dans la tranche 8ja15j le plus grand taux est situé au degré +3 (50%), dans la tranche 16ja 21j le taux le plus élevé se situe au degré +1 (50%), entre 22 et 39j le taux le plus élevé se situe au degré +2 (41,46%), entre 40 et 60j le taux le plus élevé se situe au degré +1(61,53%), entre 61 et 80j le taux le plus important se situe au degré +1(66,7%)

Tableau 14 : Fréquence de Cryptosporidium en fonction de l'âge

tranches d'âge	examens coprologiques	cas positifs	% des cas +	Degré d'infestation					
				1	%	2	%	3	%
0 à 7j	23	3	13,04%	2	66,7%	1	33,33%	0	0%
8 à 15j	31	10	32,25%	2	20%	3	30%	5	50%
16 à 21	30	14	46,66%	7	50%	4	28,58%	3	21,42%
22 à 39	53	41	77,35%	12	29,26%	17	41,46%	12	29,26%
40 à 60	48	13	27,08%	8	61,53%	3	23,07%	2	15,3%
61 à 80	23	3	13,04%	2	66,7%	1	33,33%	0	0%
81 à 90	15	0	0%	0	0	0	0	0	0%
TOTAL	223	84	37,66%	33	39,28%	29	34,52%	22	26,1%

Courbe 1 : Evolution de l'excrétion de Cryptosporidium en fonction de l'âge



Courbe 2 évolution du degré d'infestation en fonction de l'âge

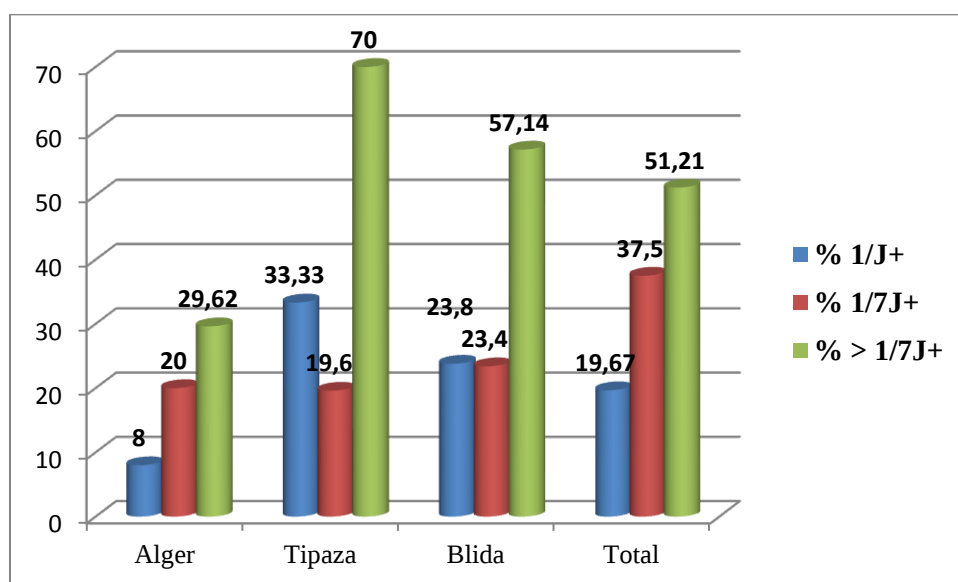
4.7 Prévalence de Cryptosporidium en fonction du renouvellement de la litière :

Le tableau 7 montre la prévalence de Cryptosporidium en fonction du renouvellement de la litière, en effet les prélèvements issus de veaux dont la litière a été changée une fois par jour (1/j) montre que sur les 61 prélèvements effectués, 12 étaient positifs soit un taux de 19,67%, alors que pour les litières renouvelées une fois par semaine 30 étaient positifs sur 80 prélèvements ce qui représente 37,5%. En fin pour les prélèvements issus de veaux dont la litière a été changée moins d'une fois par semaine, sur un nombre de 82 prélèvements, 42 se sont révélés positifs soit un pourcentage de 51,21%

Tableau 15 : prévalence de Cryptosporidium en fonction du rythme de renouvellement de la litière

Elevages	prélèvement	Litière 1/j	1/j +	% 1/J+	1/7j	1/7j+	% 1/7J+	> 1/7j	> 1/7j +	% > 1/7J+
Alger	70	25	2	8	45	9	20	27	8	29,
Tipaza	86	15	5	33,33	51	10	19,6	20	14	70
Blida	67	21	5	23,8	47	11	23,4	35	20	57,
Total	223	61	12	19,67	80	30	37,5	82	42	51,2

1/j=litière renouvelée une fois par jour, 1/J+=prélèvements positif pour cette variable, 1/7j=litière renouvelée une fois par semaine, 1/7j+=prélèvements positifs pour cette variable, >1/7j=litière renouvelée moins d'une fois par semaine,>1/7j+=prélèvements positifs pour cette variable



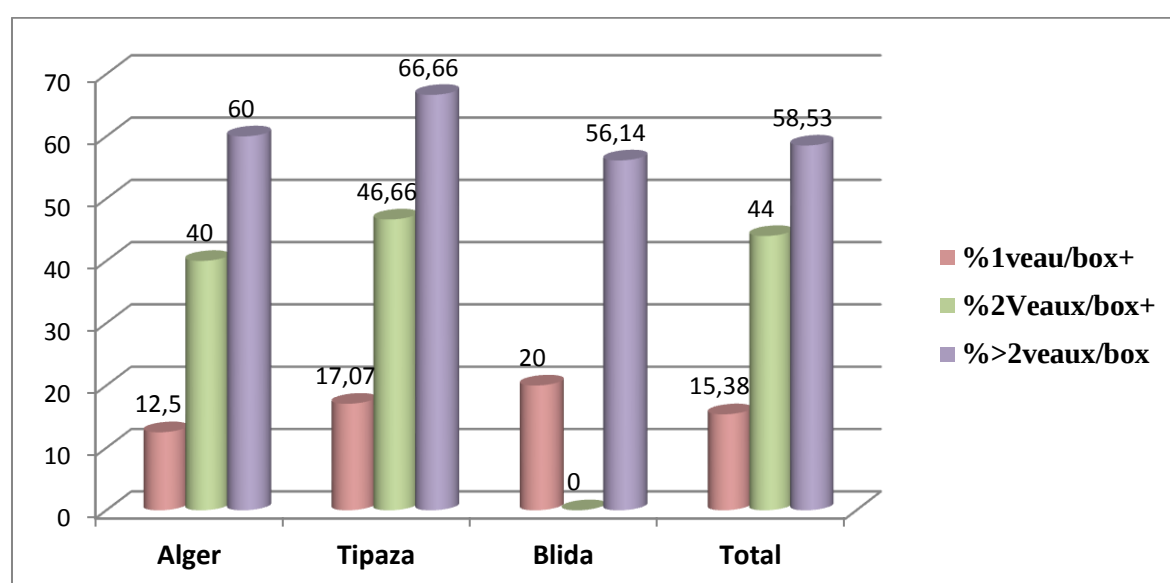
Histogramme 6 : prévalence de Cryptosporidium en fonction du rythme de renouvellement de la litière

4.8 Prévalence de Cryptosporidium en fonction du nombre de veaux par box

Le tableau 8 montre le taux d'excrétion de Cryptosporidium en fonction du nombre de veau par box. Sur les 91 prélèvements issus de box contenant 1veau par box 7se sont révélés positifs ce qui représente 15,38%, pour les box contenant 2veaux, le taux a été de 22 positif sur 50 prélèvements avec un pourcentage de 44%, enfin les box avec plus de 2 veaux ont montres des taux de 48 cas positifs sur 82 prélèvements ce qui représente 58,53%.

Tableau 16: prévalence de Cryptosporidium selon le nombre de veaux par box

Élevages	examens effectués	1veau/box	2veaux/box	> 2veau x/box	1veau/box+	2veaux/box+	> 2veaux/box+	%1veau/box+	%2Vea ux/box+	%>2veau x/box
Alger	70	40	20	10	5	8	6	12,5%	40%	60%
Tipaza	86	41	30	15	7	14	10	17,07%	46,66%	66,66%
Blida	67	10	0	57	2	0	32	20%	0	56,14%
Total	223	91	50	82	14	22	48	15,38%	44%	58,53%



Histogramme 7: prévalence de Cryptosporidium en fonction du nombre de veaux par box

4.9 Prévalence de Cryptosporidium en fonction de l'hygiène générale de l'étable :

Les élevages étudiés ont été répartis en trois catégories selon le respect oui ou non de certains critères d'hygiène.

Bonne hygiène : si présence d'eau courante, absence de fumier sur le trajet de travail, chaulage fréquent des étables, bonne apparence du tégument cutané des vaches et des veaux

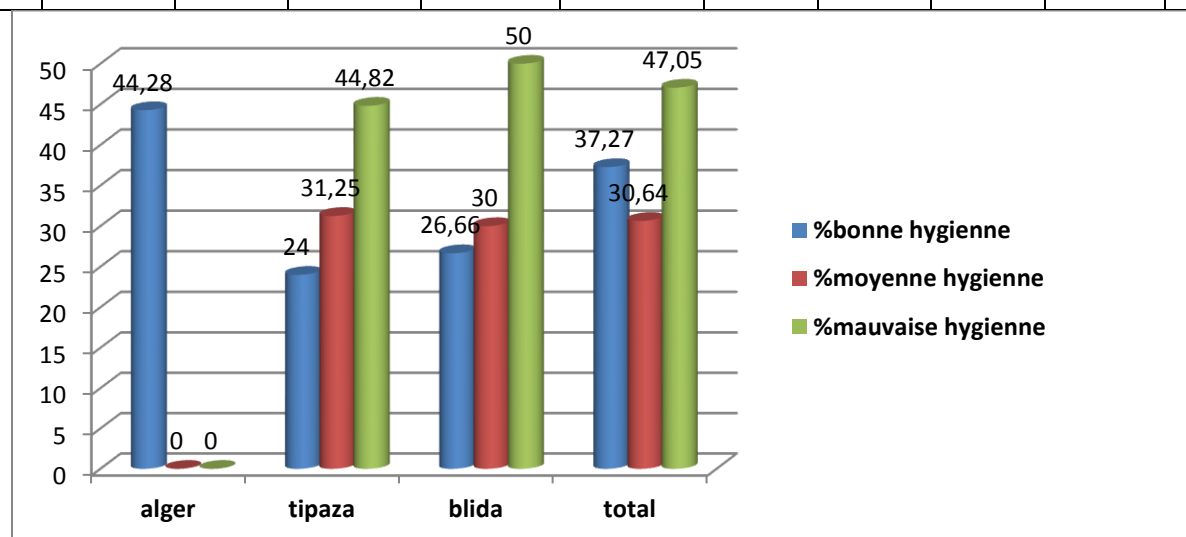
Hygiène moyenne : s'il y a absence d'au moins un critère

Mauvaise hygiène : si absence d'au moins deux critères

Le tableau 9 montre la fréquence de l'excrétion de *Cryptosporidium* en fonction de l'hygiène générale de l'étable, en effet dans les élevages où l'hygiène est bonne 110 prélèvements ont été effectués 41 se sont révélés positifs ce qui représente 37,27%, pour les élevages où l'hygiène était moyenne sur les 62 prélèvements 19 sont positifs ce qui représente 30,64% en fin pour les prélèvements issus d'étables où l'hygiène était mauvaise, sur 51 prélèvements 24 se sont révélés positifs soit 47,50%

Tableau 17: fréquence de *Cryptosporidium* en fonction de l'hygiène générale de l'étable

élevage	prélèvement effectué	bonne hygiène	hygiène moyenne	Mauvaise hygiène	bonne hygiène +	moyenne hygiène +	mauvaise hygiène +	%bonne hygiène	%moyenne hygiène	%mauvaise hygiène
Alger	70	70	0	0	31	0	0	44,28%	0%	0%
Tipaza	86	25	32	29	6	10	13	24%	31,25%	44,82%
Blida	67	15	30	22	4	9	11	26,66%	30%	50%
Total	223	110	62	51	41	19	24	37,27%	30,64%	47,05%



Histogramme 8 fréquence de *Cryptosporidium* en fonction de l'hygiène générale de l'étable

5 Discussion :

5.1 Méthodes de prélèvements :

5.1.1 Elevages :

Les prélèvements sont réalisés au hasard, sans échantillonnages préalables, les veaux choisis sont des veaux dont l'âge varie entre 1j et 90j présentant oui ou non des diarrhées, aucun examen clinique n'a été réalisé.

Les élevages concernés par l'étude, ont été ciblés selon la coopération des éleveurs et la disponibilité de veaux concernés par l'âge d'étude.

L'élevage dont les vaches ont été vaccinées contre les principaux agents de la diarrhée néonatale, a été choisis pour étudier l'influence de la vaccination sur la fréquence d'excrétion des oocystes de *Cryptosporidium* dans les selles des veaux, le vaccin utilisé dans ce cas était le « TRIVACTON 6 » de l'institut merial, cette vaccination rentre au sein d'un programme vaccinale établis par le vétérinaire traitant.

5.1.2 Prélèvements :

La technique de prélèvement est celle décrite par la plupart des auteurs (Lefay et al., 2000 ; Akam et al., 2002 ; Baroudi, 2005 ; Khelef, 2007 ; Imre et al., 2008), les prélèvements de selles directement du rectum permet de prévenir la contamination des selles par le sol. Etant donné que la source de contamination est représentée par les selles, de toute évidence la présence d'oocystes doit être recherché à ce niveau.

Un gant unique a été utilisé par prélèvement afin d'éviter la contamination des prélèvements. (Lefay et al , 2000).

Le dichromat de potassium permet la conservation de l'échantillon (Baroudi, 2005).

5.2 Techniques utilisées au laboratoire :

5.2.1 Technique de Ritchie :

Les techniques de flottaison sont nombreuses parmi elles la technique de flottation en sucrose et la flottation en solution saline concentrée, ses techniques manque de sensibilité à moins qu'elles soient associées à une coloration à l'auramine phénol sur lame qui nécessite une observation sous microscope a fluorescence (Gordon et Qing , 2011). La méthode de Ritchie

par contre est une méthode classique de concentration des oocystes, elle est simple et ne nécessite pas du matériel lourd pour être réalisée.

5.2.2 Coloration de Ziehl- Neelsen :

Cette technique reste la plus réalisable et la plus simple à réaliser, parmi les nombreuses modifications de cette technique celle proposée par Henriksen et Pohlenz continue à être considérée comme la technique de référence. La coloration repose sur le principe que les oocystes gardent la coloration lors de l'étape de décoloration. D'autres colorations ont été développées telle que celle à l'auramine-o (Casemore , 1991).

Vu que le but de notre étude vise la présence ou l'absence d'oocystes dans les échantillons, la technique de Ziehl- Neelsen paraît la meilleure technique puisqu'elle colore 60% des oocystes, ce qui est bien dans notre étude car on considère positif tout prélèvement contenant au moins un oocyste.

5.3 Discussion des résultats :

5.3.1 Prévalence globale dans les élevages :

Les résultats obtenus concernant la prévalence globale, indiquent que la cryptosporidiose sévit toujours dans les régions d'études, en effet le taux enregistré était de 37,66% ce taux est dans l'ensemble en concordance avec les taux enregistrés dans de nombreux pays. En Hollande 44 % en Allemagne 43% (Fayer et al., 1998). Au Chili 49.8% et 56.1% (Díaz-Lee et al., 2011), Roumanie 36,8 % et 61,7 % (Darabus et al., 2001), en Espagne 47.9%. (José , 2002) en Algérie et dans les mêmes régions d'étude la prévalence se situe entre 18% et 54% (Akam et al., 2002) et 47,79% (Baroudi, 2005).

5.3.2 Prévalence de *Cryptosporidium* en fonction du statut clinique :

L'étude montre que *Cryptosporidium* est excrété aussi bien chez le veau diarrhéique que non diarrhéique, dans notre étude la prévalence d'excrétion chez les veaux diarrhéiques était de 69,04%, alors qu'elle était de 18,70% chez les non diarrhéiques. Ces résultats rejoignent ceux retrouvés dans plusieurs pays (Chris et al., 2010), rapportent 15.3% et 63.0% pour les selles non diarrhéiques et diarrhéiques respectivement. En France 43.4% pour les diarrhéiques contre 17.9 % pour les non diarrhéiques (Lefay et al., 2000) en Turquie (Sevinc et al., 2003) ont trouvés 63.92 % chez les veaux diarrhéiques et 9.85 %. Chez les non diarrhéiques.

En Algérie les taux rapportés sont 33,1% pour les diarrhéiques et 13,37% pour les non diarrhéiques (Khelef, 2007) ; 63,73% pour les diarrhéiques et 36,01% (Baroudi 2005) ; 36,13% pour les diarrhéiques et 8,91% pour les non diarrhéiques (Akam et al., 2011)

De nombreuses études antérieures ont montré une association significative entre la diarrhée et l'excrétion d'oocystes (Maddox et al., 2006 ; Geurden et al., 2006 ; Singh et al., 2006).

A partir de ces résultats il apparaît claire que la prévalence de l'excrétion des oocystes de *Cryptosporidium* est nettement supérieure chez les diarrhéiques que les non diarrhéiques $p=0,02<0,05$. Donc deux fait sont à signalés le premier est que, si la sous population concernée était diarrhéique on aura une prévalence supérieure. Autre fait très important ; l'excrétion n'est pas reliée à la diarrhée, mais c'est la diarrhée qui est en relation avec le degré d'excrétion, en effet l'existence de porteurs sain qui excrètent les oocystes possède une valeur épidémiologique très importante car ils constituent le réservoir de parasite qui permet la transmission à l'intérieur de l'élevage, la détection précoce de ces porteurs sain va permettre de meilleurs résultats.

5.3.3 Prévalence de *Cryptosporidium* en fonction du sexe :

Notre étude a montré une relation entre le sexe et l'excrétion d'oocystes de *Cryptosporidium* vue que l'étude statistique à montrer une différence significative $p=0,03 < 0,05$. Donc le sexe semble jouer un rôle dans la fréquence d'excrétion des oocystes. Ces résultats ne sont pas en concordance avec celles trouvées par (Akam et al., 2002 ; Baroudi, 2005). La fréquence d'excrétion est plus importante chez les femelles (44,09%) que chez les males (29,16%), ces résultats rejoignent ceux trouvés par Naciri et al en France (Naciri et al., 2001).

5.3.4 Prévalence de *Cryptosporidium* selon le statut immunitaire de la mère :

L'utilisation des vaccins contre les agents bactériens et viraux des diarrhées néonatales ne semble pas jouer un rôle important dans la variation de l'excrétion des oocytes de *Cryptosporidium*, en effet les résultats obtenus le confirment avec un taux de 44,28% pour les veaux positifs issus de mères vaccinées, et un taux de 34, 64% pour les veaux positifs issus de mères non vaccinées. L'analyse statistique montre une différence non significative $p=0,46>0,05$.

Ces résultats sont en discordance avec ceux de (Baroudi, 2005), qui a trouvé une différence significative entre les deux résultats.

Les vaccins contre les trois principaux agents (coronavirose, rotavirose, E. Coli) n'ont aucune action sur les cryptosporidies, l'excrétion des oocystes n'est ni retardée ni inhibée, c'est l'intensité des symptômes qui diffère, en effet la présence des autres agents de la diarrhée aggravent la symptomatologie en provoquant l'immunodépression.

L'utilisation des vaccins joue plutôt un rôle dans la qualité immunitaire du colostrum en augmentant le taux des immunoglobulines, et par la même occasion la défense immunitaire du veau, ceux-ci a été étudié par (Hodgins et Shewen, 1996).

Dans une autre étude, Morin et al., ont montrés que l'utilisation de vaccins contre les principaux agents de diarrhées augmenterait l'excrétion des oocystes (Morin et al., 2001)

5.3.5 Prévalence de *Cryptosporidium* en fonction de la prise colostrale :

La prise colostrale semble jouer un rôle dans la fréquence d'excrétion. Dans notre étude le taux d'excrétion des veaux ayant pris leur colostrum était inférieure au taux enregistrés chez les veaux n'ayant pas pris leur colostrum, en effet on a noté respectivement des taux de (26,16%).et (48,27%). L'analyse statistique montre une différence significative $p=0,03 < 0,05$. Ces taux démontrent l'importance de la prise colostrale selon les normes conventionnelles (10% a12% du poids corporel) comme volume dans les 24h et distribution dans les 6h suivant la mise bas. Le colostrum ne semble pas jouer un rôle direct sur *Cryptosporidium*, c'est grâce à son rôle dans le renforcement de l'immunité du veau en lui apportant des immunoglobulines que son action protectrice apparait, c'est grâce à cette immunité passive que le veau arrive à lutter contre l'infestation. Ce rôle protecteur a été bien démontré par (Jones et al., 1988 ; Hodgins et Shewen , 1996) .

5.3.6 Prévalence de *Cryptosporidium* en fonction de l'âge :

Bien que le veau soit en contact avec le parasite dès son jeune Age, il ne manifeste pas de sensibilité les premiers jours, l'excrétion est détecté, dans notre étude, à partir de la tranche d'âge de 0a7j ou nous avons signalé un taux de 13,04% cela est dû probablement à la couverture immunitaire du colostrum, ne serait-ce que dans l'expression clinique de la diarrhée, et elle est due à l'absence de récepteurs spécifique au cryptosporidiums au niveau de l'intestin du veau (Khelef, 2007). Cela rejoint les études menées par (Kvac, et al., 2006 ; Fayer et al., 2006 ; 2007 ; Langkjær, et al., 2007 ; Akam et al., 2007 ; Santín et al., 2008). En parallèle, et dans la même tranche d'âge nous avons enregistré le plus fort taux d'infestation au score de 1 ce qui confirme la non sensibilité du veau a cet âge. Au fur et à mesure que le veau avance dans l'âge la fréquence d'excrétion a tendance à augmenter ce qui

explique les taux enregistrés entre 8 et 15j et entre 16j et 21j qui étaient de 32,25% et 46,66% respectivement ces taux se rapprochent de ceux trouvés par (Baroudi, 2005) qui se situent entre 48,71% et 61,53% dans la fourchette d'âge de 5 à 10j et 17j à 21j . Dans les tranches d'âges situées entre 8j et 14j, 15j et 21j HANI, 2003 a trouvée des taux de 35,20% et 52,83% respectivement. Dans ces deux tranches d'âges l'augmentation de l'excrétion reflète la plus grande sensibilité des veaux pendant cette phase, en effet cela peut être corroboré par les taux les plus élevés au scores de 3 et 2 respectivement enregistrés, cette sensibilité peut être expliquée par la présence de récepteurs spécifiques au cryptosporidiums au niveau de l'intestin du veau, d'une part, et d'autre part par l'état immunitaire du veau à cet âge, en effet pendant cette période l'immunité passive apportée par le colostrum tend à disparaître et le taux des immunoglobulines tend vers la diminution, en parallèle l'immunité active apportée par la synthèse propre du veau n'est pas assez développée pour permettre une protection suffisante c'est ce qu'on appelle communément « le trou immunitaire ».

Le pic d'excrétion des oocystes dans notre étude se situe dans la tranche d'âge entre 22j et 39j qui est de 77,35%. C'est un taux inhabituel dans ce genre d'enquête. Dans la plupart des études ce pic était plus précoce, (Baroudi, 2005) avait trouvé un pic entre 17j et 21j à 61,53%, (Khelef, 2007) lui a trouvé un pic 32,09% à 15j, Hani en 2003 avait trouvé un pic à 52,83% dans la tranche d'âge située entre 15j et 21j, à cette augmentation de l'excrétion des oocystes on a enregistré un taux moyen d'infestation dans cette tranche d'âge qui était de 41,46% au score 2. Récemment une étude en France, utilisant la biologie moléculaire a eu des résultats similaires, ils ont obtenu un taux de 85% entre 24j et 34j (Rieux et al., 2013). Deux études, utilisant la biologie moléculaire, ont eu le même pic à 25j et 37j (Silverlås et al., 2010) et 22j et 42j (Murakoshi et al. 2012). Ces études ont démontrés la possibilité de l'infestation du veau par d'autres espèces de cryptosporidiums qui possèdent une période de latence plus longue que cryptosporidiums parvum. Dans notre étude et vu l'absence d'examens moléculaires, cette hypothèse ne peut être avancée. Ce taux enregistré dans cette fourchette d'âge, associée à l'infestation moyenne, reflète probablement le portage sain des veaux, en effet il s'agit d'une tranche d'âge qui excrète les oocytes sans signes cliniques.

Après un début sous protection colostrale, le veau acquiert petit à petit une autonomie immunitaire ; son taux d'anticorps augmente et il devient capable de se défendre contre l'infestation. Ce qui explique la diminution du taux d'excrétion entre 40j et 60j ou nous avons signalés un taux de (27,08%). Ce taux diminue avec le temps, on a enregistré un taux de 13,04% dans la tranche d'âge de 61j à 80j avant de devenir nul dans la fourchette de 81j à 90j

ou aucun oocyste n'a été détecté. Par ailleurs dans la tranche d'âge de 61j à 80j, 66,7% ont un score de 1 et 33,33% ont un score de 2, cela veut dire que pendant cette tranche d'âge les veaux ne font pas d'expression clinique de la maladie mais excrètent le parasite vu que l'expression clinique est étroitement corrélée au degré d'infestation, d'où l'importance de ne pas mélanger des veaux d'âge différent. Ces résultats se rapprochent de celle retrouvée en France par (Naciri et al, 2001).

5.3.7 Prévalence de *Cryptosporidium* en fonction du rythme de renouvellement de la litière :

L'excrétion des oocystes semble avoir une relation avec la fréquence de renouvellement de litière, rappelons au passage que la plus part des élevages visités utilisaient de la paille comme litière pour les veaux. Dans le cas où le renouvellement de la litière était quotidien, nous avons remarqué que le taux d'excrétion était de 19,67 (12 /61) ce taux est significativement plus faible comparé au taux d'excrétion rencontré dans le cas d'un renouvellement une fois par semaine de la litière, et qui avait une valeur de 37,5%(30/80) $p= 0,03<$. Cela peut être expliqué par le fait que le renouvellement fréquent diminue le contact du parasite avec le veau, et sachant que les litières de paille constituent le milieu idéal pour entretenir le parasite en créant une humidité et chaleur favorables à la conservation des oocystes, le raclage fréquent permet d'éliminer le maximum d'oocystes. Dans le même contexte, (Brook et al., 2008), étudiaient l'influence de l'épaisseur de la litière sur la fréquence d'excrétion des oocystes, mais n'ont pas trouvé de différence significatives, d'autres auteurs annoncent que le renouvellement quotidien de la litière diminue le taux d'excrétion des oocystes (Mohammed et al., 1999 ; Szonyi et al., 2012). L'excrétion tend vers l'augmentation dans les boxes où le renouvellement de la litière se fait une fois tous les 10j et plus, ce qui nous amène à dire que plus la fréquence de renouvellement de la litière diminue, plus la fréquence d'excrétion augmente ce qui explique le taux enregistré chez les veaux dont la litière a été renouvelée une fois tous les 10 j et plus et qui est de 51,21%(42 /82).

5.3.8 Prévalence de *Cryptosporidium* en fonction du nombre de veaux par box :

Le nombre de veaux par box ne semble pas influencer le taux d'excrétion $p= 0,07>$ ce qui rejoint les études de (Duranti et al., 2009 ; Silverlas et al., 2009) qui n'ont pas trouvés de différences significatives. La différence rencontrée pour notre cas, est due probablement à la fluctuation d'échantillonnage.

Il apparait que le nombre de veau par box ne joue pas un rôle essentiel dans la fréquence d'excrétion dans notre étude, en effet c'est plutôt le mélange de veau d'âge différent qui peut conditionner la fréquence d'excrétion et non pas le nombre (Atwill et al., 1999 ; Naciri et al., 2001 ; Chris et al., 2010).

5.3.9 Prévalence de *Cryptosporidium* en fonction de l'hygiène générale de l'étable :

Dans notre étude, la différence entre les élevages où l'hygiène était bonne, moyenne ou mauvaise, et la fréquence d'excrétion des oocystes de *Cryptosporidium*, n'était pas significative, $p=0,20>0,05$. Il semblerait que l'hygiène générale de l'élevage à elle seule, dans notre cas, ne soit pas un facteur limitant dans la propagation et la diffusion du parasite à l'intérieure de l'élevage.

Les oocystes de *Cryptosporidium* sont très résistants dans le milieu extérieur (Bukhari. et, Smith, 1995 ; Atwill, et al.1998 ; Lefay, et al, 2000 ; Chartier, 2003 ; Khelef, 2007 ; Duranti, et al, 2009 ; Akam et al, 2009). le fait d'avoir une bonne hygiène apparente n'exclut pas la présence du parasite, en effet plusieurs études ont démontrés une fréquence d'excrétion plus ou moins élevée dans des élevages où les normes d'hygiène ont été respectés (Chris, et al. 2010 ; Rieux et al . 2013), l'utilisation des facteurs physiques telle que la chaleur (Akam, et al. 2009), ou les facteurs chimiques telle que les désinfectants (formol essentiellement) (Khelef, 2007), reste le seul moyen efficace pour lutter contre la viabilité des oocystes. Il est donc suggéré d'utiliser des cages à veaux empêchant les contacts entre ceux-ci et de faire un bon lavage, suivi d'une désinfection du sol et des murs entre chaque utilisation et, si possible, de laisser vacants les enclos pendant quelques jours. L'ajout fréquent de litière aide également à réduire la contamination (Daignault, 2007).

6 Conclusion :

Il est navrant de constater que la cryptosporidiose sévit toujours dans notre pays et dans pratiquement les mêmes régions d'étude précédente, cela est matérialisé par le taux global enregistré lors de notre étude et qui est de 37,66%.

L'interaction entre l'excrétion des oocystes et certains facteurs de risques étudiés, a montré une nette relation entre le taux d'excrétion et certains facteurs, et la faible relation voir l'indépendance entre le taux d'excrétion et les autres facteurs.

L'âge apparait comme le facteur le plus influençant, en effet la tranche d'âge sensible est entre 16j et 30j, mais Il serait intéressant de savoir quelles espèces et / ou génotypes sont réellement présents dans les échantillons positifs de *Cryptosporidium* pour déterminer les implications zoonotiques, d'où l'importance d'une étude sur le plan biologie moléculaire.

Le statut immunitaire du veau reste un élément déterminant dans la lutte contre les différentes pathologies en particulier la cryptosporidiose, d'où l'importance de la prise colostrale selon les normes conventionnelles.

L'hygiène générale de l'élevage et surtout des boxes de vêlage et des boxes individuels pour veaux, est un élément à prendre en considération, mais elle doit être associée à une désinfection adéquate pour espérer néanmoins réduire l'excrétion des oocystes dans le milieu extérieure et réduire par la même occasion la propagation de la maladie.

En fin, d'autres facteurs de risques, telle que l'étude du couple vache-veau, la nature de la litière concernant les boxes des veaux, la recherche d'oocystes dans l'eau d'abreuvement, qui n'ont pas pu être étudiés dans notre cas, devraient l'être pour une bonne compréhension des moyens de lutte contre cette parasitose, ainsi que pour la gestion et la prévention de la maladie chez les animaux de la ferme qui ont été impliqués comme la principale source de transmission pour l'homme.

Références Bibliographiques

- A. Akam et al., (2002).** Epidémiologie de la Cryptosporidiose bovine dans une région de Mitidja de l'Algérie. *Scientia Parasitologica*, 2, 22-27.
- A. Rieux, C. Chartier,, I. Porsa, C. Parauda. (2013).** Dynamics of excretion and molecular characterization of *Cryptosporidium* isolates in pre-weaned French beef calves. *Veterinary Parasitology*, 169– 172.
- A.T. Marshall, J.T. LaMont. (1997).** Cryptosporidiosis and public health. *Hosp. Pract*, 15–16 11, 23.
- Acha S.J., K. J. (2004).** Studies On Calf Diarrhoea In Mozambique Prévalence Of Bacterial Pathogens. *Acta Vet Scand*, pp. 45, 27-36.
- Agnew DG, Lima AA, Newman RD et al. (1988).** Cryptosporidiosis in northeastern Brazilian children: association with increased diarrhea morbidity. *J Infec Dis*, 754-60.
- Akam A., D. Khelef , R. Kaidi , KH. Rahal , H. Tali-Maamar ; B.Yabrir , A. Laoun , A. Mostfaoui , S. Boutaiba, V. Cozma . (2011).** The Frequency of the Shedding of *Cryptosporidium parvum*, F5 *Escherichia coli* Rotavirus, Coronavirus and *Salmonella* spp. in Young Dairy Calves in Mitidja Area (Algeria). *Bulletin UASVM, Veterinary Medicine*, 68(2).
- Akam A., Gh. Dărbăuș,V.Cozma , E. Suteu , R. Kaidi , K. Khelef ,Bachi F., Z. Bouchene. (2009).** Influence of Temperature on the Viability of *Cryptosporidium Parvum* Oocysts from the Faeces Isolated from Calves. *Bulletin UASVM, Veterinary Medicine*, ISSN 1843-5270.
- Akam A., M. Lafri , D. Khelef , R. Kaidi , Z. Bouchène , V. Cozma, E. Suteu . (2007).** Cryptosporidiose bovine dans la region de la mitidja (ALGERIE). *Bulletin USAMV-CN*, 1-2.
- Amar, C., Pedraza-Diaz, S., and McLauchlin, J. (2001).** Extraction and genotyping of *Cryptosporidium parvum* DNA from fecal smears on glass slides stained conventionally for direct microscope examination. *J. Clin Microbiol*, 39, 401–403.
- Anderson, B. (1998).** Cryptosporidiosis in bovine and human health. *Journal of Dairy Science*, 3036-41.
- Archambault D, Morin G, Elazhary Y, et al. (1988).** Immune response of pregnant heifers and cows to bovine rotavirus inoculation and passive protection to rotavirus infection in newborn calves fed colostral antibodies or colostral lymphocytes. *Am. J. Vet. Res*(49), 1084-1091.
- Arrowood, M.J. et Donaldson, K. (1996).** Improved purification methods for calf-derived *Cryptosporidium parvum* oocysts using discontinuous sucrose and cesium chloride gradients. *J. Eukaryot. Microbiol*, 43,89S.
- Arrowood. M.J. and Sterling, C.R. (1987).** Isolation of *Cryptosporidium* oocysts and sporozoites using discontinuous sucrose and isopycnic Percoll gradients. *J. Parasitol*, 314–319.
- Atwill, E.R., HARP, J.A., Jones, T., Jardon, P.W., Checel, S.,Zylstra, M. (1998).** Evaluation of periparturient dairy cows and contact surfaces as a reservoir of *Cryptosporidium parvum* for calfhoo infection. *American Journal of Veterinary Research*, 1116-21.

- Atwill, E.R., Johnson, E., Klingborg, D.J., Vesperat, G.M., Markegard, G., Jensen, W.A., Pratt, D.W., Delmas, R.E., George H.A., Forero, L.C., Philips, R.L., Barry, S.J., McDougald, N.K., Gildersleeve, R.R., Frost, W.E. (1999).** Age, geographic, and temporal distribution of fecal shedding of *Cryptosporidium parvum* oocysts in cow-calf herds. *American Journal of Veterinary Research*, 420-5.
- Atwill, E.R., Johnson, E.M., Pereira, M.C. (1999).** Association of herd composition, stocking rate, and duration of calving season with fecal shedding of *Cryptosporidium parvum* oocysts in beef herds. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1833-8.
- Awad-el-Kariem, F.M., Robinson, H.A., Dyson, D.A., Evans, D., Wright, S., Fox, M.T. and McDonald, V. (1995).** Differentiation between human and animal strains of *Cryptosporidium parvum* using isoenzyme typing. *Parasitology* 110, 129-132.
- Baitner K. (2007).** Transmission of antibodies from mother to young : evolutionary strategies in a proteolytic environment. *Vet. Immunol. Immunopathol*(117), 153-161.
- Barrington GM et al. (1997).** Effect of prolactin on in vitro expression of the bovine mammary immunoglobulin G1 receptor. *J. Dairy Sci*(80), 94-100.
- Baumrucker CR, Hadsell DL, Blum JW. (1994).** Effects of dietary insulin-like growth factor I on growth and insulin-like growth factor receptors in neonatal calf intestine. *J Anim Sci*(72), 428-33.
- Baxby, D., Blundell, N., and Hart, C.A. (1984).** The development and performance of a simple, sensitive method for the detection of *Cryptosporidium* oocysts in feces. *J. Hyg.*, 93, 317-323.
- Bendali, F. , Bichet, H., Schelcher, F., Sanaa, M. . (1999).** Pattern of diarrhoea in newborn beef calves in south-west France. *Veterinary Research*, 61-74.
- Besser TE, Gay CC, Pritchett L. (1991).** Comparison of three methods of feeding colostrum to dairy calves. *J. Am. Vet. Med. Assoc*(198), 419-422.
- Besser TE, Szenci O, Gay CC. (1990).** Decreased colostral immunoglobulin absorption in calves with postnatal respiratory acidosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc*, 1239-1243.
- Blecha GK, Bulls RC, Olson DP. (1981).** Effects of prepartum protein restriction in the beef cow on immunoglobulin content in blood and colostral whey and subsequent immunoglobulin absorption by the neonatal calf. *J. Anim. Sci*(53), 1174 • 1180.
- Bovine Alliance on Management and Nutrition (BAMN). (2001).** Récupéré sur A guide to colostrum and colostrums management for dairy calves:
[<http://www.aphis.usda.gov/vs/ceah/ncahs/nahms/dairy/bamn/BAMNColostrum.pdf>]
- Bradford P, Smith. (2008).** Large Animal Internal Medicine. *Mosby*, p. 1872.
- Brignole TJ, Stott GH. (1980).** Effect of suckling followed by bottle feeding colostrum on immunoglobulin absorption and calf survival. *J. Dairy Sci*(63), 451-456.
- Buhler C, Hammon H, Rossi GL. (1998).** Small intestinal morphology in eight-day-old calves fed colostrum for different durations or only milk replacer and treated with long-R3-insulinlike growth factor I and growth hormone. *J Anim Sci*(76), 758-65.
- Bukhari, Z. and Smith, H.V. (1995).** Effect of three concentration techniques on viability of *Cryptosporidium parvum* oocysts recovered from bovine feces. *J. Clin. Microbiol*, 2592-2595.

- Byleveld, P.M., Hunt, A., Mcanulty, J.M. (1999).** Cryptosporidiosis in the immunocompromised : weighing up the risk. *Medical Journal of Australia*, 426-8.
- Caccio, S.M. (2003).** Molecular techniques to detect and identify protozoan parasites in the environment. *Acta Microbiologica Polonica*, 151–155.
- Caccio, S.M. (2004).** New methods for the diagnosis of *Cryptosporidium* and *Giardia*. *Parasitologia*, 151–155.
- Campbell, A.T. and Smith, H.V. (1997).** Immunomagnetisable separation of *Cryptosporidium parvum* oocysts from water samples. *Water Sci. Technol*, 397–401.
- Carey, C.M., Lee, H. and Trevors, J.T. (2004).** Biology, persistence and detection of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis* oocyst. *Water Research*, 818–862.
- Carreno, R.A., Martin, D.S., and Barta, J.R. (1999).** *Cryptosporidium* is more closely related to the gregarines than to coccidia as shown by phylogenetic analysis of apicomplexan parasites inferred using small-subunit ribosomal RNA gene sequences. *Parasitol. Res*, 899–904.
- Casemore DP. (1990).** Epidemiological aspects of human cryptosporidiosis. *Epidemiol Infect*, 1-28.
- Casemore, D.P. . (1991).** Laboratory methods for diagnosing cryptosporidiosis. *ACP Broadsheet*, 445–451.
- Casemore, D.P., Armstrong, M., and Sands, R.L. (1985).** Laboratory diagnosis of cryptosporidiosis. *J. Clin Pathol*, 1337–1341.
- Castany, G. (1980).** L'eau propre. *Editions Hachette*, p. 191.
- Causser, L.M., Handzel, T., Welch, P., Carr, M., Culp, D., Lucht, R., Mudahar, K., Robinson, D., Neavear, E., Fenton, S., Rose, C., Craig, L., Arrowood, M., Wahlquist, S., Xiao, L., Lee, Y.M., Mirel, L., Levy, D., Beach, M.J., Poquette, G., and Dworkin, M.S. (2006).** An outbreak of *Cryptosporidium hominis* infection at an Illinois recreational waterpark. *Epidemiol. Infect*, 147–156.
- CDC. (2001).** *Protracted outbreak of cryptosporidiosis associated with swimming pool use—Ohio and Nebraska, 2000*, *MMWR Morb, Mortal Wkly*.
- Centers for Disease Control and Prevention. ((consultation le 10/01/2013).** *Preventing cryptosporidiosis* . Récupéré sur a guide for people with compromised immunesystems: http://www.cdc.gov/ncidod/dpd/parasites/cryptosporidiosis/factsht_crypto_prev_ent_ci.htm
- Certad, G. (2008).** *De la caractérisation génétique et phénotypique de Cryptosporidium (Alveolata : Apicomplexa à la mise en vidence du rôle de C. parvum dans l'induction de néoplasie digestive*. Thèse doctorat des sciences de l'universite de lille 2 Spécialité : Parasitologie.
- Chan, R., Chen, J., York, M.K., Setijono, N., Kaplan, R.L., Graham, F., and Tanowitz, H.B. (2000).** Evaluation of a combination rapid immunoassay for detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* antigens. *J. Clin Microbiol*, 38, 393–394.
- Charlotte Silverlas , Ulf Emanuelson , Kerstin de Verdier , Camilla Bjo;rkman. (2009).** Prevalence and associated management factors of *Cryptosporidium* shedding in 50 Swedish dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine*, 242–253.
- Chartier F. (1981).** Etude de la réhydratation des veaux diarrhéiques par voies orale et parentérale. Thèse de doctorat d'ingénieur agronome. Ecole nationale supérieure d'agronomie de Montpellier.
- Chartier, c. (2003).** Cryptosporidiose Des Ruminants. *Tec Et Doc*, 1559-1568.

- Chase CCL, Hurley DJ, Reber AJ. (2008).** Neonatal immune development in the calf and its impact on vaccine response. *Vet. Clin. Food Anim.*, (24), 87-104.
- Chigerwe M, Tyler JW, Summers MK, Middleton JR, Schultz LG, Nagy DW. (2009).** Evaluation of factors affecting serum IgG concentrations in bottle-fed calves. *J. Am. Vet. Med. Assoc*(234), 785-789.
- Chris J.M. Bartels , Menno Holzhauer , Ruurd Jorritsma ,Wim A.J.M. Swart a, Theo J.G.M. Lam . (2010).** Prevalence, prediction and risk factors of enteropathogens in normal and non-normal faeces of young Dutch dairy calves. *Preventive Veterinary Medicine*, 162–169.
- Cole J, Blikslager A, Hunt E, et al. (2003).** Cyclooxygenase blockade and exogenous glutamine enhance sodium absorption in infected bovine ileum. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 16–24.
- Craun, G.F., Calderon, R.L., and Wade, T.J. (2006a).** Assessing waterborne risks: An introduction. *J. Wat. Health*, 3–18.
- Curtiss R, Kelly SM, Hassan JO. (1993).** Live oral avirulent Salmonella vaccines. *Vet. Microbiol*(37), 397-405.
- D, Khelef. (2007).** Enquête épidémiologique sur les diarrhées neonatales du veau dans certains élevages du centre et de l'est de l'ALGERIE. These de doctorat d'état es-sciences.
- D, Baroudi. (2005).** la cryptosporidiose bovine dans certaines fermes d'Alger et de ses environs et son impact sur la sante humaine. *these de magistere en science veterinaire*.
- D.A. Mosier, R.D. Oberst. (2000).** Cryptosporidiosis. A global challenge. *Ann. NY Acad. Sci*, 102–111.
- Davis CL, Drackley JK. (1998).** The development, nutrition, and management of the young calf. *Iowa State University, 1*, 179-206.
- De graaf, D.C., Vanopdenbosch, E., Ortega-Mora, L.M., Abbassi H., Peeters , J.E. (1999).** A review of the importance of cryptosporidiosis in farm animals. *International Journal for Parasitology*, 1269-87.
- Didier Lefay , Muriel Naciri , Pierre Poirier , René Chermette ;. (2000).** Prevalence of Cryptosporidium infection in calves in France. *Veterinary Parasitology*, 1–9.
- Drewry JJ, Quigley JD, Geiser DR. (1999).** Effect of high arterial carbon dioxide tension on efficiency of immunoglobulin G absorption in calves. *Am. J. Vet. Res*, 609-614.
- Duranti, A;Caccio, S. M;Pozio, E;De Curtis, M;Battisti, A;Scaramozzino, P. (2009).** Risk Factors Associated with Cryptosporidium parvum Infection in Cattle. *Zoonoses and public health* , 176-182.
- Elfstrand L, Lindmark-Mansson H, Paulsson M, et al. (2002).** Immunoglobulins, growth factors and growth hormone in bovine colostrum and the effects of processing. *Int Dairy*(12), 879–87.
- Elitok B, Elitok OM, Pulat H. (2005).** Efficacy of azithromycin dihydrate in treatment of cryptosporidiosis in naturally effected dairy calves. *J Vet Intern Med*, 590–3.
- Elliot, A., Morgan, U.M. and Thompson, R.C.A. (1999).** Improved staining method for detecting Cryptosporidium oocysts in stools using Malachite. *Journal of General and Applied Microbiology*, 139–142.

- Elliott DA, Clark DP. (2003).** Host cell fate on *Cryptosporidium parvum* egress from MDCK cells. *Infect Immun*, 5422–6.
- Emily Brook , C. Anthony Hart , Nigel French , Robert Christley. (2008).** Prevalence and risk factors for *Cryptosporidium* spp infection in young calves. *Veterinary Parasitology*, 46–52.
- F o l i a v e t e r i n a r i a. (2010).** Diarrhees neonatales du veau et choix raisonne de la rehydratation. *F o l i a v e t e r i n a r i a*, 1,10.
- F. Sevinc, K. Irmak and M. Sevinc. (2003).** The prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection in the diarrhoeic and non- diarrhoeic calves. *Revue Méd. Vét.*
- Farthing, M. (2000).** Clinical aspects of human cryptosporidiosis *Contrib. Microbiol*, 50–74.
- Fassi-Fehri M., Taoudi A., Johnson D.W., Filali B.K. (1989).** Caractères de l'infection à rotavirus du veau dans un foyer endémique. *Revue. Méd. Vét.*, 123-127.
- Fayer R, Andrews C, Ungar BL, et al. (1989).** Efficacy of hyperimmune bovine colostrum for prophylaxis of cryptosporidiosis in neonatal calves. *J Parasitol*, 393–7.
- Fayer R, Ellis W. (1993).** Paromomycin is effective as prophylaxis for cryptosporidiosis in dairy calves. *J Parasitol*, 771–4.
- Fayer R., Speer C.A. & Dubey J.P. (1999).** General biology of *Cryptosporidium*. In: *Cryptosporidiosis of Man. CRC Press. Boca Raton, Florida, USA.*
- Fayer, R. (1997).** general biology of *Cryptosporidium*. In *Cryptosporidium and Cryptosporidiosis* Fayer,R. Ed. *CRC Press, Boca Raton*., 1–41.
- Fayer, R., Dubey, J.P., Lindsay, D.S. (2004).** Zoonotic protozoa: from land to sea. *Trends Parasitol*, 531–536.
- Fayer, R., Gasbarre, L., Pasquali, P., Canals, A., Almeria, S., Zarlenga, D. (1998).** *Cryptosporidium parvum* infection in bovine neonates: dynamic clinical, parasitic and immunologic patterns. *Int. J. Parasitol*, 49–56.
- Fayer, R., Morgan, U.M., Upton, S. (2000).** Epidemiology of *Cryptosporidium* :transmission, detection and identification. *International Journal for Parasitology*, 1305-22.
- Fayer, R., Santín, M., Trout, J.M. and Greiner, E. (2006).** Prevalence of species and genotypes of *Cryptosporidium* found in 1–2-year-old dairy cattle in the eastern United States. *Veterinary Parasitology*, 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. *Vet. Parasitol*, 260–266.
- Fayer, R., Santin, M., Xiao, L. (2005).** *Cryptosporidium bovis* n. sp(Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in cattle (*Bos taurus*). *J. Parasitol*, 624–629.
- Fayer, R., Speer, C.A. and Dubey, J.P. (1990).** General biology of *Cryptosporidium*, in *Cryptosporidiosis of Man and Animals*, Dubey, J.P., Speer, C.A. and Fayer, R., Eds. *CRC Press*, 1–29.
- Feng, Y., Ortega, Y., He, G., Das, P., Xu, M., Zhang, X., Fayer, R., Gatei, W., Cam V.L.X. (2007).** Wide geographic distribution of *Cryptosporidium bovis* and the deer-like genotype in bovines. *Vet.Parasitol*, 1-9.

- Fleck, S.L. and Moody, A.H. (1988).** *Diagnostic Techniques in Medical Parasitology*. London, U.K: Butterworth-Heinemann Ltd.
- Fleta, J., Sanchez-Acedo, C., Clavel, A. and Quilez, J. (1995).** Detection of *Cryptosporidium* oocysts in extraintestinal tissues of sheep and pigs. *Vet. Parasitol*, 201–205.
- Foley JA, Otterby DE. (1978).** Availability, storage, treatment, composition, and feeding value of surplus colostrum. *J. Dairy. Sci*(61), 1033-1060.
- Fontanarrosa, M.F., Vezzani, D., Basabe, J., and Eiras, D.F. (2006).** An epidemiological study of gastrointestinal parasites of dogs from Southern Greater Buenos Aires (Argentina), age, gender, breed, mixed infections and seasonal and spatial patterns. *Vet. Parasitol*, 283–295.
- Forgacs P, Tarshis A, Ma P et al. (1983).** Intestinal and bronchial cryptosporidiosis in an immunodeficient homosexual man. *Ann Intern Med*, 793-4.
- Foster DM, Smith GW. (2009).** Pathophysiology of diarrhea in calves. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 13–36.
- Francis rousseau. (2006).** Les diarrhées des veaux sous la mère :il est impossible de les éviter totalement mais sachez les prévenir et les guérir. *Comite interprofessionnel "veau sous la mere"*, 3.
- Garcia, L.S. and 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.
- Garcia, L.S., Bruckner, D.A., Brewer, T.C., and Shimizu, R.Y. (1983).** Techniques for the recovery and identification of *Cryptosporidium* oocysts from stool specimens. *J. Clin. Microbiol*, 185–190.
- Geurden, T., Goma, F.Y., Siwila, J., Phiri, I.G., Mwanza, A.M Gabriel, S., Claerebout, E., Vercruyse, J.,. (2006).** Prevalence and genotyping of *Cryptosporidium* in three cattle husbandry systems in Zambia. *Vet. Parasitol*, 217–222.
- GH. Darabus, I. Cosoroaba, I. Oprescu et S. Morariu. (2001).** Épidémiologie de la cryptosporidiose chez les animaux dans l'Ouest de la Roumanie. *Revue Méd. Vét.*, 399-404.
- Godden Sandra. (2008).** Colostrum Management for Dairy Calves. *Vet Clin Food Anim*(24), 19-39.
- Goh, S., Reacher, M., Casemore, D.P., Verlander, N.Q., Charlett, A., Chalmers, R.M., Knowles, M., Pennington A., Williams, J., Osborn, K., and Richards, S. (2005).** Sporadic cryptosporidiosis decline after membrane filtration of public water supplies, England, 1996–2002. *Emerg. Infect. Dis*, 251–259.
- Gookin JL, Nordone SK, Argenzio RA. (2002).** Host responses to *Cryptosporidium* infection . *J Vet Intern Med*, 12–21.
- Gordon J Leitch, Qing He. (2011).** Cryptosporidiosis-an overview. *Journal of Biomedical Research*, 25(1):1-16.
- Gordon Nichols . (2008).** Epidemiology. Dans L. X. Ronald Fayer, *cryptosporidium and cryptosporidiosis* (pp. 79-100). CRC Press.
- Graczyk, T.G., Cranfield, M.R., and Fayer, R. (1996).** Evaluation of commercial enzyme immunoassay (EIA) and immunofluorescent antibody (IFA) test kits for detection of

- Cryptosporidium oocysts of species other than *Cryptosporidium parvum*. *Am. J. Trop. Med. Hyg*, 54, 274–279.
- calf. *Vet. J.*, 102–107.
- Grusenmeyer DJ, Ryan CM, Galton DM, et al. (2006).** Shortening the dry period from 60 to 40 days does not affect colostrum quality but decreases colostrum yield by Holstein cows. *J. Dairy Sci*(89), 336.
- Guerrant RL. (1997).** Cryptosporidiosis: an emerging, highly infectious threat. *Emerg Infect Dis*, 1–10.
- Guitard, J., Menotti, J., Desveaux, A., Alimardani, P., Porcher, R., Derouin, F. and Kapel, N. (2006).** Experimental study of the effects of probiotics on *Cryptosporidium parvum* infection in neonatal rats. *Parasitology Research*, 522–527.
- Guy MA, McFadden TB, Cockrell DC, et al. (1994).** Regulation of colostrum formation in beef and dairy cows. *J. Dairy Sci*(77), 3002–3007.
- Hajdusek, O., Ditrich, O., and Slapeta, J. (2004).** Molecular identification of *Cryptosporidium* spp. in animal and human hosts from the Czech Republic. *Vet. Parasitol*, 183–192.
- Hampton, J. C., and B. Rosario. (1966).** The attachment of protozoan parasites to intestinalepithelial cells of the mouse. *J. Parasitol*, 939–949.
- Harp JA, Woodmansee DB, Moon HW. (1989).** Effects of colostral antibody on susceptibility of calves to *Cryptosporidium parvum* infection. *Am J Vet Res*, 117–9.
- Harp, J.A., Goff, J.P. (1998).** Strategies for the control of *Cryptosporidium parvum* in calves. *Journal of Dairy Science*, 81, 289–94.
- Henricksen, S. A. and Pohlenz, J. F. (1981).** Staining of Cryptosporidia by a modified Ziehl-Neelsen technique. *Acta. Vet. Scand*, 22, 594–596.
- Hill, B.D., Blewett, D.A., Dawson, A.M., and Wright, S.E. (1990).** Analysis of the kinetics, isotype and specificity of serum and coproantibody in lambs infected with *Cryptosporidium parvum*. *Res. Vet. Sci*, 76–81.
- Hoar, B.R., Atwill, E.R., Elmi, C., Utterback, W.W., Edmondson A.J. (1999).** Comparison of fecal samples collected per rectum and on the ground for estimation of environmental contamination attributable to beef cattle. *American Journal of Veterinary Research*, 11, 1352–6.
- Hodgins DC, Shewen PE. (1996).** Preparturient vaccination to enhance passive immunity to the capsular polysaccharide of *Pasteurella haemolytica* A1. *Vet. Immunol. Immunopathol*(50), 67–77.
- Huang, B.Q., Chen, X.-M. and LaRusso, N.F. (2004).** *Cryptosporidium parvum* attachment to and internalization by human biliary epithelia in vitro, a morphological study. *J. Parasitol*, 212–221.
- Huber (J.T.),et al. (1974).** Digestive enzyme activity in the young calf. *J Dairy Sci.*, pp. 44, 1494–1501.
- Hunt, D.A., Sebugwawo, S., Edmondson, S.G., and Casemore, D.P. (1994).** Cryptosporidiosis associated with a swimming pool complex. *Commun. Dis. Rep. CDR Rev*, R20–R22.

- Hunter, P.R. and Nichols, G. (2002).** Epidemiology and clinical features of *Cryptosporidium* infection in immunocompromised patients. *Clin. Microbiol. Rev.*, 145–154.
- Huw Smith. (2008).** diagnostics. Dans Lhuia. Xiao. Ronald Fayer, *Cryptosporidium And Cryptosporidiosis* (pp. 176-210). CRC Press.
- Ingrid Lorenz. (2006).** Diarrhoea of the young calf: an update. *Clinic for Ruminants, University of Munich, Oberschleissheim, Germany.*
- Insulander, M., Lebbad, M., Stenstrom, T.A., and Svenungsson, B. (2005).** An outbreak of cryptosporidiosis associated with exposure to swimming pool water. *Scand. J. Infect. Dis.*, 354–360.
- Israel EJ, Patel VK, Taylor SF, et al. (1995).** Requirement for a beta 2-microglobulin-associated Fc receptor for acquisition of maternal IgG by fetal and neonatal mice. *J. Immunol*(154), 6246-6251.
- Joce, R.E., Bruce, J., Kiely, D., Noah, N.D., Dempster, W.B., Stalker, R., Gumsley, P., Chapman, P.A., Norman P., and Watkins, J. (1991).** An outbreak of cryptosporidiosis associated with a swimming pool. *Epidemiol Infect.*, 497–508.
- Johnston, S.P., Ballard, M.M., Beach, M.J., Causer, L., and 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.
- Jones PW, Collins P, Aitken MM. (1988).** Passive protection of calves against experimental infection with *Salmonella typhimurium*. *Vet. Rec*(123), 536-541.
- Jones, M., Boccia, D., Kealy, M., Salkin, B., Ferrero, A., Nichols, G., and Stuart, J. (2006).** *Cryptosporidium* outbreak linked to interactive water feature, U.K.: importance of guidelines. *Euro. Surveill.*, 11.
- José A. Castro-Hermida, Yolanda A. González-Losada,. (2002).** Prevalence of and risk factors involved in the spread of neonatal bovine cryptosporidiosis in Galicia (NW Spain). *Veterinary Parasitology*, 1–10.
- K. Imre, GH. Dărbăbus, I. Oprescu, S. Morariu, Narcisa Mederle, M.S. Ilie, Ionela Hotea, Mirela Palca, L. Tamasy. (2008).** Prevalence Of cryptosporidiosis in association with other enteropathogens at piglets in timis county. *lucrări stiințifice medicină veterinară*, vol. xli,.
- K. Molbak, M.Andersen, P.Aaby, N. Hojlyng, M. Jakobsen, M. Sodemann A.P. da Silva. (1997).** *Cryptosporidium* infection in infancy as a cause of malnutrition: a community study from Guinea-Bissau, west Africa. *Am. J. Clin. Nutr.*, 149–152.
- Kilani, R.T. et Sekla, L. (1987).** Purification of *Cryptosporidium* oocysts and sporozoites by cesium chloride and Percoll gradients. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 505–508.
- Klein P, Kleinova T, Volek Z, et al. (2008).** Effect of *Cryptosporidium parvum* infection on the absorptive capacity and paracellular permeability of the small intestine in neonatal calves. *Vet Parasitol.*, 53–9.
- Klein P. (2008).** Preventative and therapeutic efficacy of halofuginone-lactate against *Cryptosporidium parvum* in spontaneously infected calves: a centralized randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Vet J.*, 177:429–31.
- Kramer, M.H., Sorhage, F.E., Goldstein, S.T., Dalley, E., Wahlquist, S.P., and Herwaldt, B.L. (1998).** First reported outbreak in the United States of cryptosporidiosis associated with a recreational lake. *Clin.Infect. Dis.*, 27–33.

- Kvac, M., Kouba, M. and Vitovec, J. (2006).** Age-related and housing dependence of *Cryptosporidium* infection of calves from dairy and beef herds in South Bohemia, Czech Republic. *Veterinary Parasitology*, 137, 202–209.
- La Creuse Agricole. (2010).** L'immunité du veau, une donnée à mieux connaître : une prise en charge de son évaluation.
- Lacetera N, Bernabucci U, Ronchi B, et al. (1996).** Effects of selenium and vitamin E administration during a late stage of pregnancy on colostrum and milk production in dairy cows, and on passive immunity and growth of their offspring. *Am. J. Vet. Res*(57), 1776-1780.
- Lallemond M, Villeneuve A, Belda J, et al. (2006).** Field study of the efficacy of halofuginone and decoquinate in the treatment of cryptosporidiosis in veal calves. *Vet Rec*, 159:672–7.
- Langer, R.C. and Riggs M.W. (1999).** *Cryptosporidium parvum* apical complex glycoprotein CSL contains a sporozoite ligand for intestinal epithelial cells. *Infect. Immun*, 5282–5291.
- Langer, R.C., Schaefer, D.A. and Riggs, M.W. (2001).** Characterization of an intestinal epithelial cell receptor recognized by the *Cryptosporidium parvum* sporozoite ligand CSL. *Infect. Immun*, 1661–1670.
- Langkjær, R.B., Vigre, H., Enemark, H.L. and Maddox-Hyttel, C. (2007).** Molecular and phylogenetic characterization of *Cryptosporidium* and *Giardia* from pigs and cattle in Denmark. *Parasitology*, 134, 339–350.
- Larson BL, Heary HL Jr, Devery JE. (1980).** Immunoglobulin production and transport by the mammary gland. *J. Dairy Sci*(63), 665-671.
- Le Jan C. (1996).** Cellular components of mammary secretions and neonatal immunity. *Vet. Res*(27), 403 •]417.
- Leach, C.T., Koo, F.C., Kuhls, T.L., Hilsenbeck, S.G., and Jenson, H.B. (2000).** Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection in children along the Texas-Mexico border and associated risk factors. *Am. J. Trop Med. Hyg*, 656–661.
- Leander, B.S., Clopton, R.E. and Keeling, P.J. (2003).** Phylogeny of gregarines (Apicomplexa) as inferred from small-subunit rDNA and beta-tubulin. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol*, 345–354.
- Lefay, D., Naciri, M., Poirier, P., Chermette, R. (2000).** Prevalence of *Cryptosporidium* infection in calves in France. *Veterinary Parasitology*, 1-9.
- Levine, N.D. (s.d.).** Phylum II. Apicomplexa Levine 1970, in *Illustrated Guide to the Protozoa*, Lee, J.J Hutner, S.H. and Bovee, E.C., Eds. *Society of Protozoologists*. Lawrence, Kansas.
- Liebler-Tenorio EM, Riedel Caspari G, Pohlenz JF. (2002).** Uptake of colostral leukocytes in the intestinal tract of newborn calves. *Vet. Immunol. Immunopathol*(85), 33-40.
- Lihua Xiao, Ronald Fayer, Una Ryan, Steve J. Upton. (2004).** *Cryptosporidium* Taxonomy: Recent Advances and Implications for Public Health. *Clin Microbiol Rev*, 72–97.
- Lindsay, D.S., Upton, S.J., Owens, D.S., Morgan, U.M., Mead, J.R.,. (2000).** *Cryptosporidium andersoni* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporiidae) from cattle *Bos taurus*. *J. Eukaryot. Microbiol*, 91–95.
- Liu J, Deng M, Lancto CA, et al. (2009).** Biphasic modulation of apoptotic pathways in *Cryptosporidium parvum*-infected human intestinal epithelial cells. *Infect Immun*, 837–49.

- Lumb, R., Smith, K., O'Donoghue, P.J. and Lanser, J.A. (1988).** Ultrastructure of the attachment of *Cryptosporidium* sporozoites to tissue culture cells. *Parasitol. Res*, 531–536.
- Ma, P. and Soave, R. (1983).** Three-step stool examination for cryptosporidiosis in 10 homosexual men with protracted watery diarrhea. *J. Infect. Dis*, 824–828.
- Maddox-Hyttel, C., Langkjaer, R.B., Enemark, H.L., Vigre, H., (2006).** *Cryptosporidium* and *Giardia* in different age groups of Danish cattle and pigs—occurrence and management associated risk factors. *Vet. Parasitol.*
- Maes Paul. (2010).** Étiologie des diarrhées néonatales et transfert colostral chez le veau : enquête dans la creuse. these, med vet.
- Mahdi, N.K. and Ali, N.H. (2002).** Cryptosporidiosis among animal handlers and their livestock in Basrah, Iraq. *East Afr. Med. J.*, 550–553.
- Mancassola R, Reperant JM, Naciri M, et al. (1995).** Chemoprophylaxis of *Cryptosporidium parvum* infection with paromomycin in kids and immunological study. *Antimicrobial Agents Chemother*, 39:75–8.
- Mancassola R, Richard A, Naciri M. (1997).** Evaluation of decoquinat to treat experimental cryptosporidiosis in kids. *Vet Parasitol*, 69:31–7.
- Manuel terrestre de l'OIE. (2005).**
- Mathieu, E., Levy, D.A., Veverka, F., Parrish, M.K., Sarisky, J., Shapiro, N., Johnston, S., Handzel, T Hightower, A., Xiao, L., Lee, Y.M., York, S., Arrowood, M., Lee, R., and Jones, J.L. (2004).** Epidemiologic and environmental investigation of a recreational water outbreak caused by two genotypes of *Cryptosporidium parvum* in Ohio in 2000. *Am. J. Trop. Med. Hyg*, 582–589.
- Maunsell FP, Morin DE, Constable PD, et al. (1999).** Use of mammary gland and colostral characteristics for prediction of colostral IgG1 concentration and intramammary infection in Holstein cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc*, 1817-1823.
- Maunsell FP, Morin DE, Constable PD, et al. (1998).** Effects of mastitis on the volume and composition of colostrum produced by Holstein cows. *J. Dairy Sci*(81), 1291-1299.
- McGuirk SM, Collins M. (2004).** Managing the production, storage and delivery of colostrum. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract*(20(3)), 593-603.
- McKenzie WR, Hoxie NJ, Proctor ME et al. (1994).** A massive outbreak in Milwaukee of *Cryptosporidium* infection transmitted through the public water supply. *N Engl J Med*, 161-7.
- McLauchlin, J., Casemore, D.P., Harrison, T.G., Gerson, P.J., Samuel, D., and Taylor, A.G. (1987).** Identification of *Cryptosporidium* oocysts by monoclonal antibody. *Lancet*, 51.
- Mele R, Gomez Morales MA, Tosini F, et al. (2004).** *Cryptosporidium parvum* at different developmental stages modulates host cell apoptosis in vitro. *Infect Immun*, 6061–7.
- Merry, R.J., Mawdsley, J.L., Brooks, A.E., Davies, D.R. (1997).** Viability of *Cryptosporidium parvum* during ensilage of perennial ryegrass. *Journal of Applied Microbiology*, 115-20.
- Mohammed, H.O., Wade, S.E., Schaaf, S. (1999).** Risk factors associated with *Cryptosporidium parvum* infection in dairy cattle in southeastern New York State. *Veterinary Parasitology*, 1-13.

- Monica Santin , James M. Trout, Ronald Fayer. (2008).** A longitudinal study of cryptosporidiosis in dairy cattle. *Veterinary Parasitology*, 15-23.
- Moore DA, Atwill ER, Kirk JH, et al. (2003).** Prophylactic use of decoquinate for infections with *Cryptosporidium parvum* in experimentally challenged neonatal calves. *J Am Vet Med Assoc*, 223:839–45.
- Moore M, Tyler JW, Chigerwe M, Dawes ME and Middleton JR. (2005).** Effect of delayed colostrum collection on colostral IgG concentration in dairy cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc*(226), 1375-1377.
- Morgan, U.M., Constantine, C.C., O'Donoghue, P., Meloni, B.P., O'Brien, P.A. and Thompson, R.C. (1995).** Molecular characterization of *Cryptosporidium* isolates from humans and other animals using random amplified polymorphic DNA analysis. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 559–564.
- Morin DE, Constable PD, Maunsell FP, et al. (2001).** Factors associated with colostral specific gravity in dairy cows. *J. Dairy Sci*(84), 937-943.
- Morin DE, McCoy GC, Hurley WL. (1997).** Effects of quality, quantity, and timing of colostrums feeding and addition of a dried colostrum supplement on immunoglobulin G1 absorption in Holstein bull calves. *J. Dairy Sci*(80), 747-753.
- Morris, R.D., Naumova, E.N., and Griffiths, J.K. (1998.).** Did Milwaukee experience waterborne cryptosporidiosis before the large documented outbreak in 1993? *Epidemiology* 9, 264–270.
- Muller LD, Ellinger DK. (1981).** Colostral immunoglobulin concentrations among breeds of dairy cattle. *J. Dairy Sci*(64), 1727-1730.
- 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.
- Myers LL, Snodgrass DR. (1982).** Colostral and milk antibody titers in cows vaccinated with a modified live rotavirus-coronavirus vaccine. *J. Am. Vet. Med. Assoc*(81), 486-488.
- Naciri . M. ; Lacroix S. ; Laurent F. (2000).** La Cryptosporidiose Des Ruminants (1ère Partie). *L'action Vétérinaire*(1536), 17-23.
- Naciri, M. (1994).** Cryptosporidiose des ruminants et santé publique. *Le Point Vétérinaire, numéro spécial « Ruminants et santé publique »*, 49-55.
- Naciri, M. Lacroix, S. Laurent, F. (2001).** La cryptosporidiose des ruminants (2eme partie) . *L'action veterinaire*, 11-18.
- Naciri, M., Lefay, M.P., Mancassola, R., Poirier, P., Chermette, R. (1999).** Role of *Cryptosporidium parvum* as a pathogen in neonatal diarrhoea complex in suckling and dairy calves in France. *Veterinary Parasitology*, 245-57.
- Nappert G., D. Hamilton, L. Petrie, J.M. Naylor. (1993).** Determination of lactose and xylose malabsorption in preruminant diarrheic calves. *Can. J. Vet. Res.*,(57), 152-158.
- Nardone A, Lacetera N, Bernabucci U, et al. (1997).** Composition of colostrum from dairy heifers exposed to high air temperatures during late pregnancy and the early postpartum period. *J. Dairy Sci*(80), 838-844.
- National Animal Health Monitoring System (NAHMS. (1996, avril).** *Dairy heifer morbidity, mortality, and health management focusing on preweaned heifers. [pdf]. In. Récupéré sur*

National dairy heifer evaluation project. :
[http://www.aphis.usda.gov/vs/ceah/ncahs/nahms/dairy/ndhep/hepdes2.pdf]

National Animal Health Monitoring System (NAHMS). (1993). *Dairy herd management practices focusing on preweaned heifers*. Récupéré sur [pdf] In : National dairy heifer evaluation project: [http://www.aphis.usda.gov/vs/ceah/ncahs/nahms/dairy/ndhep/dr91des1.pdf]

Naumova, E.N., Egorov, A.I., Morris, R.D., and Griffiths, J.K. (2003). The elderly and waterborne *Cryptosporidium* infection: Gastroenteritis hospitalizations before and during the 1993 Milwaukee outbreak. *Emerg.Infect. Dis*, 418–425.

Naylor J.M. (1992). Effects of electrolyte solutions for oral administration on clotting of milk. *J. Am. Vet. Med. Assoc*, 1026-1029.

Naylor, J. (1987). Severity and nature of acidosis in diarrheic calves over and under one week of age. *Can. Vet. J.*, (28), 168-173.

Nichols, G. (2003). Using existing surveillance based data. Dans W. M. Hunter P.R., *Drinking Water and Infectious Disease—Establishing the Links* (pp. 131–141.). CRC Press, Boca Raton, FL,.

Nichols, G. (2006). Infection risks from water in natural and man-made environments. *Euro. Surveill*, 76–78.

Nichols, G.L., Chalmers, R.M., Sopwith, W., Regan, M., Hunter, C.A., Grenfell, P., Harrison, F., and Lane C. (2006). *Cryptosporidiosis: A report on the surveillance and epidemiology of Cryptosporidium infection in England and Wales*. Drinking Water Directorate Contract Number DWI 70/2/201. Drinking Water Inspectorate. Ref Type, Report.

Nichols, R.A.B., Moore, J.E., and Smith, H.V. (2006a). A rapid method for extracting oocyst DNA from *Cryptosporidium* positive human feces for outbreak investigations. *J. Microbiol. Methods*, 512–524.

Nime FA, Burek JD, Page DL, Holscher MA, Yardley JH. (1976). Acute enterocolitis in a human being infected with the proto-zoan *Cryptosporidium*. *Gastroenterology*, 592-8.

Norma E. Ramirez a, Lucy A. Ward b, Srinand Sreevatsan. (2004). A review of the biology and epidemiology of cryptosporidiosis in humans and animals. *Microbes and Infection*, 773–785.

O'Hara, S.P., Huang, B.Q., Chen, X.-M., Nelson, J. And Larusso, N.F. (2005). Distribution of *Cryptosporidium parvum* sporozoite apical organelles during attachment to and internalization by cultured biliary epithelial cells. *J. Parasitol*, 995–999.

O'Donoghue PJ. (1995). *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis in man and animals. *Int J Parasitol*, 139-95.

OIE, m. t. (2008).

Olson DP, Bull RC, Woodward LF, et al. (1981). Effects of maternal nutritional restriction and cold stress on young calves : absorption of colostral immunoglobulins. *Am. J. Vet. Res*, 876-880.

Ong, C., Moorehead, W., Ross, A., Issac-Renton, J. (1996). Studies of *Giardia* spp. And *Cryptosporidium* spp. in two adjacent watersheds. *Applied and Environmental Microbiology*, 2798-2805.

Pakkanen R, Aalto J. (1997). Growth factors and antimicrobial factors of bovine colostrum. *Int Dairy J*(7), 285–97.

- Panciera R, Thomassen RW, Garner FM. (1971).** Cryptosporidial infection in a calf. *Vet Pathol*, 479-84.
- Pedersen, C., Danner, S., Lazzarin, A Pedersen, C., Danner, S., Lazzarin, A., Glauser, M.P., Weber, R., Katlama, C., Barton, S.E., and Lundgren,J.D. (1996).** Epidemiology of cryptosporidiosis among European AIDS patients. *Genitourin. Med*, 128–131.
- Peng, M.M., Xiao, L., Freeman, A.R., Arrowood, M.J., Escalante,A.A., Weltman, A.C., Ong, C., Mac, Kenzie, W.R., Lal, A.A., Beard,C.B. (1997).** Genetic polymorphism among *Cryptosporidium parvum* isolates :evidence of two distinct human transmission cycles. *Emerging Infectious Diseases*, 567-73.
- Poulsen KP, Hartmann FA, McGuirk SM. (2002).** Bacteria in colostrum : impact on calf health. *Mira Digital Publishing*, 773.
- Preiser, G., Preiser, L., and Madeo, L. (2003).** An outbreak of cryptosporidiosis among veterinary science students who work with calves. *J. Am. Coll. Health*, 213–215.
- Pritchett LC, Gay CC, Besser TE, et al. (1991).** Management and production factors influencing Immunoglobulin G1 concentration in colostrum from Holstein cows. *J. Dairy Sci*(74), 2336-2341.
- Przybylska J, Albera E, Kankofer M. (2007).** Antioxidants in bovine colostrum. *Reprod Domest Anim*(42), 402–9.
- Rastani RR, Grummer RR, Bertics SJ, et al. (2005).** Reducing dry period length to simplify feeding transition cows : Milk production, energy balance and metabolic profiles. *J. Dairy Sci*(88), 1004-1014.
- Ravary B, Sattler N. (2006).** Néonatalogie du veau. *Les éditions du point vétérinaire*, p. 265.
- Ravn, P., Lundgren, J.D., Kjaeldgaard, P., Holten-Anderson, W., Hojlyng, N., Nielsen, J.O., and Gaub, J. (1991).** Nosocomial outbreak of cryptosporidiosis in AIDS patients. *Br. Med. J.*, 277–280.
- Reynolds D.J., Morgan J.H., Chanter N., Jones P.W.,Bridges J.C., Debney T.G., Bunch K.J. (1986).** Microbiology of calf diarrhoea in southern Britain. *Vet. Rec*, 34-39.
- Ribeiro, C.D. and Palmer, S.R. (1986).** Family outbreak of cryptosporidiosis. *Br. Med. J. (Clin. Res. Ed)*, 292-377.
- Riedel-Caspari G, Schmidt FW. (1991).** The influence of colostral leukocytes on the immune system of the neonatal calf. *Dtsch Tierarztl Wochenschr*(98), 102-398.
- Rischen, C. G. (1981).** Passive immunity in the newborn calf. *Iowa State Univ. Vet*(12(2)), 60-65.
- Robertson, L.J., Campbell, A.T., and Smith, H.V. (1993b).** Induction of folds or sutures on the walls of *Cryptosporidium parvum* oocysts and their importance as a diagnostic feature.I. *Appl. Environ. Microbiol*, 2638–2641.
- Robinson P,MartinP,GarzaA, et al. (2008).** Substance P receptor antagonismfor treatment of cryptosporidiosis in immunosuppressed mice. *J Parasitol*, 1150–4.
- Ronald Fayer. (2008).** *Cryptosporidium And Cryptosporidiosis*. CRC press.
- Rossignol JF. (2006).** Nitazoxanide in the treatment of acquired immune deficiency syndrome-related cryptosporidiosisresults of the United States compassionate use program in 365 patients. *Aliment Pharmacol Ther*, 887–94.

- Roussel A.J., T.R. Kasari. (1990).** Using fluid and electrolyte replacement therapy to help diarrheic calves. *Vet. Med*, 303-311.
- S. Boussenna, A. Sfaksi. (2009).** Incidence et etiologie des diarrhées néonatales du veau nouveau-ne dans l'est algerien. *Sciences& Technologie*, 16-21.
- Saidi R., Khelef D. et Kaidi R. (18-19 avril 2009).** Enquête épidémiologique sur les diarrhées néonatales du veau: cas d'un élevage du centre. *7 émes journées des sciences vétérinaires E.N.S.V. .*
- Sallon S, Deckelbaum RJ, Schmid II, Harlap S, Baras M, Spira DT. (1988).** Cryptosporidium, malnutrition and chronic diarrhea in children. *Am J Dis Child*, 12-5.
- Sangild PT. (2003).** Uptake of colostral immunoglobulins by the compromised newborn farm animal. *Acta. Vet. Scand.*(98), 105-122.
- Sangild PT, Schmidt M, Petersen YM. (2003).** The premature newborn calf : how to use steroids to improve survival ? *Acta. Vet. Scand. Suppl*(98), 280.
- Santín, M., Trout, J.M., Xiao, L., Zhou, L., Greiner, E., Fayer, R. (2004).** Prevalence and age-related variation of *Cryptosporidium* species and genotypes in dairy calves. *Vet. Parasitol*, 103–117.
- Santín, M., Trout, J.M. and Fayer, R. (2008).** A longitudinal study of cryptosporidiosis in dairy cattle from birth to 2 years of age. *Veterinary Parasitology*, 155, 15–23.
- Schnorr KL, Pearson LF. (1984).** Intestinal absorption of maternal leucocytes by newborn lambs. *J. Reprod. Immunol*(6), 329 •]337.
- Schnyder M, Kohler L, Hemphill A, et al. (2009).** Prophylactic and therapeutic efficacy of nitazoxanide against *Cryptosporidium parvum* in experimentally challenged neonatal calves. *Vet Parasitol*, 160:149–54.
- Scott, C.A., Smith, H.V., Mtambo, M.M.A., Gibbs, H.A. (1995).** An epidemiological study of *Cryptosporidium parvum* in two herds of adult beef cattle. *Veterinary parasitology*, 277-288.
- Silverlås, C., Näslund, K., Björkman, C., Mattsson, J.G., (2010).** Molecular characterisation of *Cryptosporidium* isolates from Swedish dairy cattle in relation to age, diarrhoea and region. *Vet. Parasitol*, 169, 289–295.
- Singh, B.B., Sharma, R., Kumar, H., Banga, H.S., Aulakh, R.S., Gill, J.P., Sharma, J.K., (2006).** Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection in Punjab (India) and its association with diarrhea in neonatal dairy calves. *Vet. Parasitol*, 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. *Preventive Veterinary Medicine*, 253-67.
- Šlapeta, J. (2009).** *Centenary of the Genus Cryptosporidium: From Morphological to Molecular Species Identification*. CAB International.
- Slavin D. (1955).** *Cryptosporidium meleagridis*. *J Comp Patho*, 262±6.
- Slifko, T.R., Smith, H.V., Rose, J.B. (2000).** Emerging parasite zoonoses associated with water and food. *International Journal for Parasitology*, 30, 1379-93.
- Smith HV, Rose JB. (1998).** Waterborne cryptosporidiosis: current status. *Parasitol Today*, 14-22.

- Smith, H. V. and Grimason, A. M. (2003).** Giardia and Cryptosporidium in water and wastewater, . Dans D. a. Mara, *Handbook of Water and Wastewater Microbiology* (pp. 619–781). Oxford, U.K.: Elsevier Science Limited,.
- Smith, H.V., Caccio, S.M., Cook, N., Nichols, R.A., Tait, A. (2007).** Cryptosporidium and Giardia as foodborne zoonoses. *Vet Parasitol*, 29-40.
- Smith, K.E., Stenzel, S.A., Bender J.B., Wagstrom, E., Soderlund, D., Leano, F.T., Taylor, C.M., Belle-Isle, P.A., and Danila, R. (2004).** Outbreaks of enteric infections caused by multiple pathogens associated with calves at a farm day camp. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 1098–1104.
- Squier, C., Yu, V.L., and Stout, J.E. (2000).** Waterborne Nosocomial Infections. *Curr Infect. Dis*, 490–496.
- Stantic-Pavlinic, M., Xiao, L., Glaberman, S., Lal, A.A., Orazen, T., Rataj-Verglez, A., Logar, J., and Berce I. (2003).** Cryptosporidiosis associated with animal contacts. *Wien. Klin. Wochenschr*, 125–127.
- Stockdale H, Spencer JA, Blagburn BL. (2008).** Prophylaxis and chemotherapy. Dans X. L. Fayer R, *Cryptosporidium and cryptosporidiosis* (pp. 255–87). Boca Raton (FL): CRC Press.
- Stott GH, Marx DB, Menefee BE, et al. (1979).** Colostral immunoglobulin transfer in calves I. Period of absorption. *J. Dairy Sci*(62), 1632-1638.
- Strohmeyer, R.A., Morley, P.S., Hyatt, D.R., Dargatz, D.A., Scorza, A.V., and Lappin, M.R. (2006).** Evaluation of bacterial and protozoal contamination of commercially available raw meat diets for dogs. *J. Am. Vet Med. Assoc*, 537–542.
- Svensson C., Linder A., Olsson S.O., (2006).** Mortality in Swedish dairy calves and replacement heifers. *J. Dairy Sci.*, 4769-4777.
- Swan H, Godden S, Bey R, et al. (2007).** Passive transfer of immunoglobulin g and preweaning health in Holstein calves fed a commercial colostrum replacer. *J. Dairy Sci*, 3857-3866.
- Szonyi, B., Chang, Y.-F., Wade, S.E., Mohammed, H.O. (2012).** Evaluation of factors associated with the risk of infection with Cryptosporidium Parvum in dairy calves. *American Journal of Veterinary Research*, 76-85.
- T Geurden, R O’Handley. (2011).** Cryptosporidiosis: An Update. *Elsevier B.V*, 844-851.
- Teresa, O.M., Vergara, A., Guimbao, J., Clavel, A., Gavin, P., and Ruiz, A. (2006).** Cryptosporidium hominis diarrhea outbreak and transmission linked to diaper infant use. *Med. Clin*, 653–656.
- Thatcher EF, Gershwin LJ. (1989).** Colostral transfer of bovine immunoglobulin E and dynamics of serum IgE in calves. *Vet. Immunol. Immunopathol*(20), 325-334.
- Thompson, R.C.A., Palmer, C.S., O’Handley, R. (2007).** The public health and clinical significance of Giardia and Cryptosporidium in domestic animals. *Vet. J.*, 18–25.
- 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*, sous press.
- Trefz Et Al. (2012).** Construction and validation of a decision tree for treating metabolic acidosis in calves with neonatal diarrhea. *BMC Veterinary Research*, 8-238.
- Tyler JW, Steevens BJ, Hostetler DE, et al. (1999).** Colostral immunoglobulin concentrations in Holstein and Guernsey cows. *Am. J. Vet*(60), 1136-1139.

- Tyzzar, E. E. (1910).** An extracellular coccidium, cryptosporidium muris (GEN. ET SP. NOV.), of the gastric glands of the common mouse. *J. Med. Res*, 487-509.
- Tzipori S. (1983).** Cryptosporidiosis in animals and humans. *Microbiol Rev*, 84696.
- Umemiya, R., Fukuda, M., Fujisaki, K. and Matsui, T. (2005).** Electron microscopic observation of the invasion process of *Cryptosporidium parvum* in severe combined immunodeficiency mice. *J. Parasitol*, 1034–1039.
- Upton, S. J., and W. L. Current. (1985).** The species of *Cryptosporidium* (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) infecting mammals. *J. Parasitol*, 625-629.
- Upton, S. (2000).** Suborder Eimeriorina Leger. *Society of Protozoologists*, 318.
- Viel H, Rocques H, Martin J, et al. (2007).** Efficacy of nitazoxanide against experimental cryptosporidiosis in goat neonates. *Parasitol Res*, 102:163–6.
- Villacorta I, Peters JE, Vanopdenbosch E, et al. (1991).** Efficacy of halofuginone lactate against *Cryptosporidium parvum* in calves. *Antimicrobial Agents Chemother*, 35:283–7.
- Viu M, Quilez J, Sanchez-Acedo C, et al. (2000).** Field trial on the therapeutic efficacy of paromomycin on natural *Cryptosporidium parvum* infections in lambs. *Vet Parasitol*, 163–70.
- W.L. Current, L.S. Garcia. (1991).** Cryptosporidiosis. *Clin. Microbiol*, 325–358.
- W.L. Current, N.C. Reese, J.V. Ernst, W.S. Bailey, M.B. Heyman, W.M. Weinstein. (1983).** Human cryptosporidiosis in immunocompetent and immunodeficient persons. Studies of an outbreak and experimental transmission. *N. Engl. J. Med*, 1252–1257.
- W.R. MacKenzie, W.L. Schell, K.A. Blair, D.G. Addiss, D.E. Peterson N.J. Hoxie, J.J. Kazmierczak, J.P. Davis,. (1995).** Massive outbreak of waterborne *Cryptosporidium* infection in Milwaukee, Wisconsin: recurrence of illness and risk of secondary transmission. *Clin. Infect Dis*. 21, 57–62.
- Weaver DM, Tyler JW, VanMetre DC, et al. (2000).** Passive transfer of colostral immunoglobulins in calves. *J. Vet. Intern. Med*, 569-577.
- Weitzel, T., Dittrich, S., Möhl, I., Adusu, E., and Jelinek, T. (2006).** Evaluation of seven commercial antigen detection tests for *Giardia* and *Cryptosporidium* in stool samples. *Clin. Microbiol. Infect*, 12, 656–659.
- Wells SJ, Dargatz DA, Ott SL. (1996).** Factors associated with mortality to 21 days of life in dairy heifers in the United States. *Prev. Vet. Med. Prev. Vet. Med*, 9-19.
- Wetzel, D.M., Schmidt, J., Kuhlenschmidt, M.S., Dubey, J.P. and Sibley, L.D. (2005).** Gliding motility leads to active cellular invasion by *Cryptosporidium parvum* sporozoites. *Infect. Immun*, 5379–5387.
- Xiao L, Zhou L, Santin M, et al. (2007).** Distribution of *Cryptosporidium parvum* subtypes in calves in eastern United States. *Parasitol Res*, 701–6.
- Xiao, L., Fayer, R., Ryan, U., Upton, S.J., (2004).** *Cryptosporidium* taxonomy: recent advances and implications for public health. *Clin Microbiol Rev*, 72-97.
- Xiao, L., Ryan, U.M., Graczyk, T.K., Limor, J., Li, L., Kombert, M., Junge, R., Sulaiman I.M., Zhou, L., Arrowood, M.J., Koudela, B., Modry, D. and Lal, A.A. (2004b).** Genetic diversity of *Cryptosporidium* spp. in captive reptiles. *Applied and Environmental Microbiology*, 891–899.

- Zhou, L., Fayer, R., Trout, J.M., Ryan, U.M., Schaefer III, F.W., and Xiao, L. (2004).** Genotypes of *Cryptosporidium* species infecting fur-bearing mammals differ from those of species infecting humans. *Appl. Environ. Microbiol*, 7574–7577.
- Zrelli M., Benyounes A., Malek A. . (1988).** Facteurs zootechniques de la mortalité des veaux en élevages laitiers enquête en Tunisie. *Revue. Méd. Vét*, 723-729.

7 ANNEXES 1



Photo 4: matériel pour prélèvement et acheminement des prélèvements



Photo 5 : technique de prélèvement de selle chez le veau



photo 6: diarrhée chez un veau

Photo 7: les étapes de la technique de Ritchie



1- déposer quelque gramme de matières fécales



2- versé eau formolée à 10%



3- agiter à l'aide d'une spatule



4- laissé reposer 2 minutes



5- aspirer une partie du surnageant



6- verser dans un tube conique



7- ajouter un volume d'éther



8-agité le tube



9- centrifuger 2500t /minute pendant 5 minutes



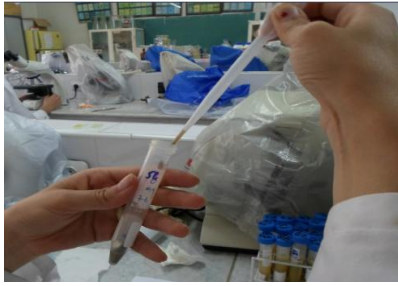
10- le contenu du tube après centrifugation



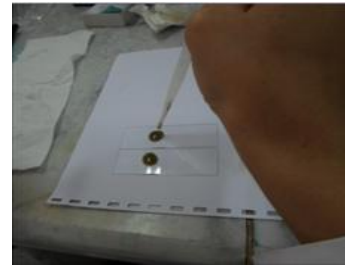
11- jeter le surnageant et garder le culot



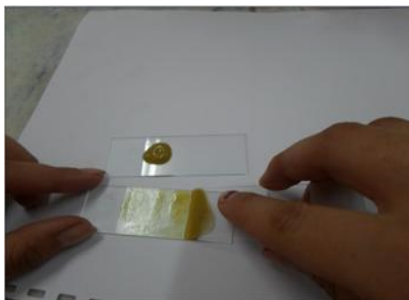
12-identifier lame au Diamant



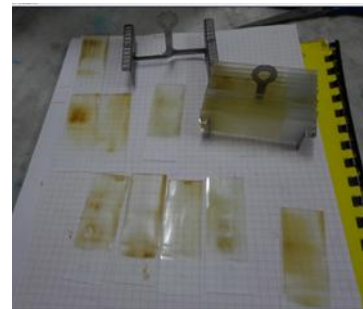
13-pipeter une goutte du culot



14-déposer la goutte sur une lame déjà identifiée



15-étaler avec une autre lame



16-laisser sécher à l'air

Photo 8 : etapes de coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz



1-Fixation au méthanol pendant 5 minutes



2-laisser sécher à l'air



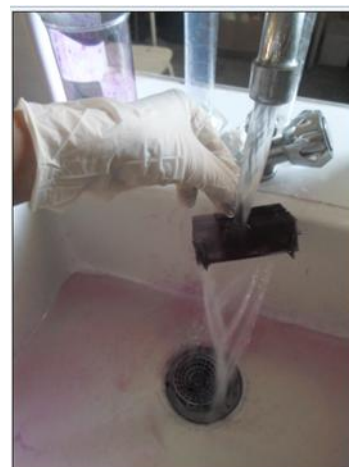
3- coloration a la fuschine phéniquée pendant 1 heure



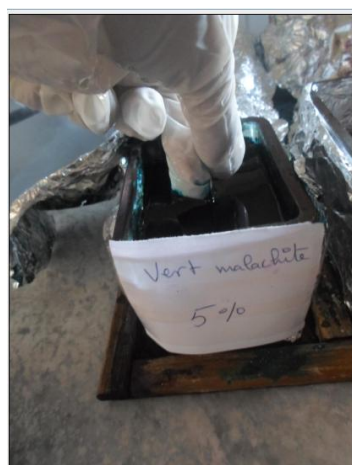
4-laver à l'eau du robinet



5-Décolorer a l'acide sulfurique 2% pendant 20 secondes



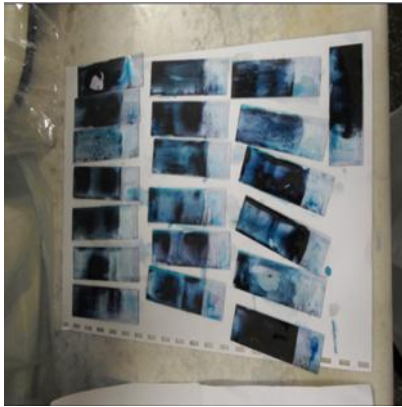
6-laver a l'eau du robinet



7-Contre colorer au vert de malachite 5% pendant 5 minutes



8-laver a l'eau du robinet



9-laisser sécher a l'air



10-rajouter une goutte d'huile a immersion