

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE IBN KHALDOUN DE TIARET
INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES
DEPARTEMENT DE SANTE ANIMALE

PROJET DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE
DOCTEUR VETERINAIRE

SOUS LE THEME

*CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA
CRYPTOSPORIDIOSE OVINE*

PRESENTE PAR:

Mr CHOUARI KAMEL

Mr BELABBES HOUSSAM

ENCADRE PAR:

Dr . LAATAMNA ABD ELKARIM



Remerciment Remerciment

© Meg/Merajje. 05

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à DIEU pour la volonté, la santé et la puissance qui nous accordé pour accomplir notre tache universitaire.

Nous tenons à remercier en particulier :

Notre promoteur Mr : LAATAMNA ABD ELKARIM qui a pris tout le soin de nous orienter et nous faire part de ses précieuses remarques

Surtout ses encouragements et sa disponibilité qui ont grandement contribué à l'élaboration de ce mémoire

En fin, nous sentons redevable envers, nos chers parents pour l'appui moral et matériel qu'ils nous ont fournit durant notre formation

MERCI

DEDICACES

A ceux qui ont fait de moi ce que je suis et qui sont toujours présents pour me soutenir à tout moment.

A mes parents 🏆

A mes frères Abd elghani et Toufik et mes soeurs en témoignage de leur amour et de leurs encouragements continus.

A tous mes amis et mon binôme Houssam..... Que dieu les garde.



Chouari Kamel



DEDICACES

A ceux qui ont fait de moi ce que je suis et qui sont toujours présents pour me soutenir à tout moment.

A mes parents ☪

A mes frères et mes soeurs en témoignage de leur amour et de leurs encouragements continus.

A tous mes amis et mon binôme Kamel.... Que dieu les garde.

Belabbes houssam



Liste de tableau

- Tableau 1** : Classification taxonomique de *Cryptosporidium* (O'Donoghue, 1995).
- Tableau 2**: différentes espèces de *Cryptosporidium* (d'après Smith et al, 2007).
- Tableau 3**: l'âge des différents animaux prélevés.
- Tableau 4** : prévalence de la cryptosporidiose dans différents groupes d'agneaux.
- Tableau 5** : Distribution de l'échantillon par stade de la production.
- Tableau 6** : prévalence de la *Cryptosporidium* par La taille du troupeau, groupe et niveau de la production.
- Tableau 7** : Fréquence de détection de *Cryptosporidium* spp. chez les agneaux.
- Tableau 8** : Relation entre l'âge et oocystes de *Cryptosporidium*.
- Tableau 9** : fréquence des agneaux diarrhéiques de *Cryptosporidium*.
- Tableau 10** : prévalence de la cryptosporidiose chez des agneaux de différent âge.
- Tableau 11** : fréquence des agneaux diarrhéiques de *Cryptosporidium*.
- Tableau 12** : Infection par *Cryptosporidium* chez les agneaux âgés de moins de 90 jours
- Tableau 13** : Prévalence de la diarrhée chez les agneaux âgés de moins de 90 jours positifs pour *Cryptosporidium*.
- Tableau 14**: relation entre l'âge, la diarrhée et les oocystes de *Cryptosporidium*.

Liste de figure

- Figure N°1. Cycle biologique de *Cryptosporidium* sp. D'après Smith et al 2007**

SOMMAIRE

SOMMAIRE

INTRODUCTION

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Généralités sur *Cryptosporidium*.

1.1. Historique.....	2
1.2. Taxonomie et classification de ce protozoaire.....	2
1.3. Morphologie et cycle évolutif du parasite.....	5

Chapitre II : Epidémiologie de cryptosporidiose

2.1. Répartition géographique et importance.....	7
2.2. Les espèces en cause chez les ovins.....	7
2.3. Prévalence.....	9
2.4. Sources et modes de transmission du parasite.....	12
2.5. Facteurs de risques.....	13

Chapitre III : Symptômes et lésions de la cryptosporidiose ovine

3.1. Symptômes.....	16
3.2. Lésions.....	18
3.3. Physiopathologie.....	20
3.4. L'immunité.....	21

Chapitre IV : Différentes techniques de mise en évidence des cryptosporidies

4.1. Diagnostic clinique.....	22
4.2. Diagnostic différentiel.....	22
4.3. Diagnostic de laboratoire.....	23

4.3.1. Les techniques de concentration.....	23
4.3.1.1. La technique de flottaison.....	23
4.3.1.2. La technique de sédimentation.....	24
4.3.2. Les techniques de coloration.....	24
4.3.2.1. La coloration de Ziehl Neelsen modifiée.....	25
4.3.2.2. La coloration à l'auramine phénol.....	25
4.3.2.3. La technique de Heine.....	25
4.3.3. Examens immunologiques.....	26
4.3.4. Les méthodes de reconnaissance de l'acide nucléique.....	27

Chapitre IV : moyens de traitement et de prophylaxie

5.1. Traitement médical.....	27
5.2. Lutte sanitaire.....	31

PARTIE EXPERIMENTALE

OBJECTIF.....	33
1. Matériels et méthodes.....	33
1.1. Techniques de prélèvement.....	33
1.2. Techniques d'analyse des matières fécales.....	33
1.2.1. Technique formol éther.....	33
1.2.2. Technique de colorations.....	34
2. Résultats et discussion.....	41
Conclusion.....	42
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	43

INTRODUCTION

La cryptosporidiose est une infection parasitaire dont l'agent étiologique est un protozoaire du genre *Cryptosporidium* d'une taille de 3-6µm, Le parasite se développe dans le tube digestif sur la surface de la cellule hôte dans la bordure en brosse en localisation intracellulaire mais extracytoplasmique (Bussi ras et Chermette, 1992 ; Bour e, 1994 ; Mage, 1998 ; Forney et *al.*, 1999). Longtemps ce parasite est considéré comme un agent de surinfection, maintenant, est reconnue comme un agent pathogène majeur, et très répandu, des diarrhées néonatales des ruminants (Chartier, 2003 ; Chizu et *al.*, 2004 ; Martin-Gomez et *al.*, 2005).

La maladie est importante chez les ruminants en particulier les agneaux nouveaux nés qui sont les plus sensible au pouvoir pathogène de ce parasite, elle est responsable d'importantes pertes économiques en élevages ovins. Elles atteignent des agneaux très jeunes, qui se contaminent probablement durant les premières heures ou jours de leur vie jusqu'à 3 semaines. Le parasite envahit la muqueuse intestinale et provoque une diarrhée jaune à jaune brunâtre, suivie d'une anorexie et d'une cachexie. La morbidité et la mortalité sont élevées. L'affection se montre très contagieuse et prend régulièrement une allure d'épidémie. (Angus et al, 1982; Koudela et Jiri, 1997; Johnson et al, 1999;. Castro-Hermida et al, 2002)

Les ookystes des *Cryptosporidies* sont massivement excrétés dans les fèces d'animaux infestés. Ces ookystes sont très résistants dans le milieu extérieur et peuvent être ingérés accidentellement par des humains et les autres animaux. La cryptosporidiose est une zoonose, elle affecte particulièrement gravement les personnes immunodéprimées.

La distribution géographique de ces parasitoses chez les ruminants est mondiale, elle est cosmopolite et ubiquiste.

Les possibilités thérapeutiques sont réduites actuellement, Plus de 100 molécules ont été testées mais aucune ne permet un contrôle parfait de la maladie.

En Algérie, cette parasitose reste inconnue est mal recherch e chez les ovins, même chez l'homme et chez les autres espèces animales. A cet effet nous visons dans cette étude, l'évaluation du taux global des ovins (agneaux et brebis) excréteurs des oocystes de *Cryptosporidium* et l'influence de certains caractères liés à l'animal sur cette excrétion parasitaire, et de mettre en évidence l'importance de cette maladie chez l'espèce ovine notamment chez les jeunes diarrhéiques. Ainsi l'étude clinique de cette maladie fait l'objet de notre enquête.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Généralités sur les *Cryptosporidies*

1.1. Historique

Entre 1907 et 1912, Tyzzer met en évidence les oocystes d'un nouvel coccidien dans les glandes gastriques et l'intestin grêle de la souris de laboratoire. Il décrit son cycle parasitaire et pense qu'il vit attaché à l'épithélium des glandes gastriques et l'intestin grêle. En se basant sur le site d'infection et la morphologie du parasite, Tyzzer classe ce nouvel protozoaire en deux espèces distinctes ; *Cryptosporidium muris* (pour les oocystes isolés dans les glandes gastriques) et *Cryptosporidium parvum* (pour les oocystes isolés dans l'intestin grêle) (Tyzzer, 1907, 1910, 1912).

Le rôle pathogène des cryptosporidies a été déterminé chez le dindon infesté par des oocystes de *Cryptosporidium* ayant présenté des troubles diarrhéiques très graves (Slavin, 1955).

1.2. Taxonomie et classification

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

Le genre *Cryptosporidium* est inclus dans le phylum *apicomplexa*, l'ordre des *Eucoccidiorida*, le sous-ordre des *Eimériorina* et la famille des *Cryptosporidiidae* (cf tableau 1 ci-dessous)

Tableau 1 : Classification taxonomique de *Cryptosporidium* (O'Donoghue, 1995).

Classification	Caractéristiques
Royaume : <i>Protozoa</i>	Organisme unicellulaire
Phylum : <i>Apicomplexa</i>	Présence d'un complexe apical
Classe : <i>Sporozoasida</i>	Reproduction asexuée et sexuée avec formation d'oocystes
Sous/classe : <i>Coccidiosina</i>	Cycle biologique comporte la mérogonie, gamogonie et sporogonie
Ordre : <i>Eucoccidiorida</i>	Mérogonie présente
Sous/ordre : <i>Eimeriorina</i>	Développement indépendant de la microgamie et la macrogamie
Famille : <i>Cryptosporididae</i>	Cycle monoxène comporte 04 sporozoites nus
Genre: <i>Cryptosporidium</i>	Un seul genre

Tableau 2 : différentes espèces de *Cryptosporidium* (d'après Smith et al, 2007)

<i>Espèce</i>	<i>hôte majeur</i>	<i>hôte mineur</i>	<i>sites d'infection</i>
C .hominis	homme	bovin, ovin	intestin grêle
C.parvum	ruminants, homme	souris, porc cerf	intestin grêle
C .bovis	bovin	ovin	intestin grêle
C. andersoni	bovin	ovin	caillette
C .muris	souris	homme	estomac
C. suis	porc	homme	gros et petit intestin
C. félis	chat	homme, bovin	intestin grêle
C. canis	chien	homme	intestin grêle
C. méleagridis	dindon, homme	perroquet	intestin grêle
C. wrairi	cobaye		intestin grêle
C. baileyi	poule	autres espèces aviaires	bourse de Fabricius
C. galli	poule		proventricule
C. serpentis	serpent, lézard		estomac
C. saurophilum	lézard	serpent	estomac et intestin
C. scophthalmi	poisson		estomac et intestin
C. molnari	poisson		intestin et estomac

1.3. Morphologie et cycle biologique du parasite

(D'après Current & Garcia, 1991 ; Fayer, 1997)

Les parasites du genre *Cryptosporidium* sont de parasites monoxènes, c'est-à-dire à un seul hôte. La forme de résistance et de dissémination de la maladie est l'oocyste, de petite taille (4 à 6µ) excrété en grand nombre dans le milieu extérieur avec les fèces des sujets infectés.

Après ingestion, l'oocyste excyste sous l'action de la trypsine et des sels biliaires, libérant ses 4 sporozoïtes ou éléments infectants. Les sporozoïtes sortent de l'oocyste et se déplacent par glissement grâce à leur système microtubulaire pour arriver au niveau de la bordure en brosse des cellules épithéliales de l'intestin. Les sporozoïtes présentent alors leur complexe apical à la membrane entérocytaire. Ils sont progressivement recouverts par la membrane plasmique des cellules épithéliales. Logés dans la vacuole parasitophore ainsi formée, ils acquièrent une position atypique: intracellulaire et extra-cytoplasmique. Ce stade parasitaire internalisé est appelé trophozoïte.

Le cycle de développement comporte deux mérogonies ou schizogonies ou multiplications asexuées, suivies de la gamétogonie. Le trophozoïte donne naissance à un méronte 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 mérontes 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 méronte 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’ocystes à paroi fine (20%) qui desenkystent immédiatement in situ (non éliminés avec les selles), entretenant l’infection.

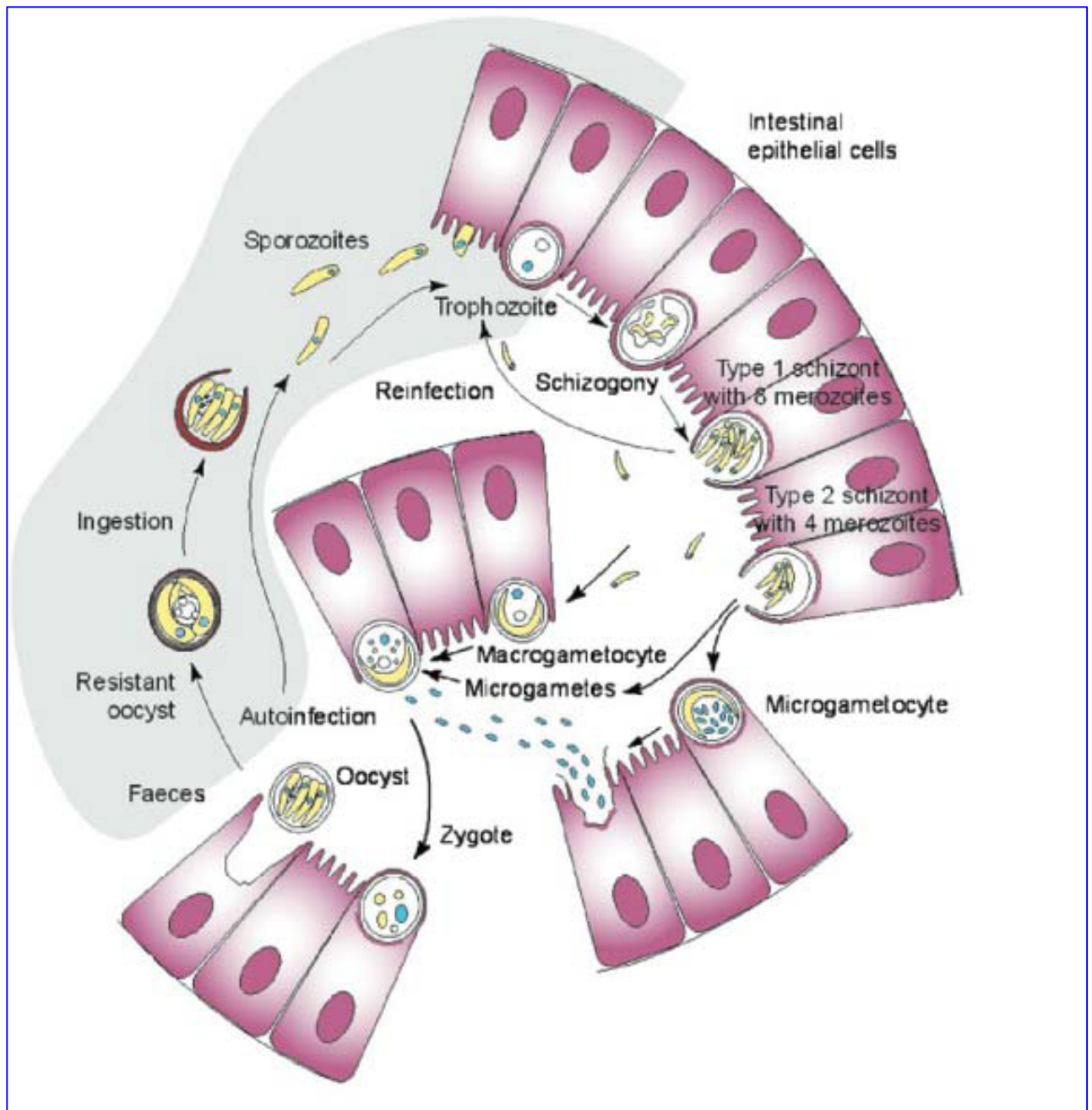


Figure N°1. Cycle biologique de *Cryptosporidium* sp. D’après Smith et al 2007

Chapitre II : Epidémiologie de cryptosporidiose

2.1. Répartition géographique et importance

Le parasite est retrouvé dans le monde entier. (APPELBEE et al. 2005, CHARTIER 2001a). Aussi *Cryptosporidium* a été rapporté chez les ovins dans le monde entier (Majewska et al, 2000;McLauchlin et al, 2000; Alonso-Fresán et al, 2005; Ryan et al, 2005).

La cryptosporidiose a été décrite chez de nombreuses espèces animales domestiques, sauvages et L'homme. Les animaux les plus jeunes semblent être les plus sensibles à l'infection et les plus susceptibles de développer une maladie tandis que les individus adultes restent la plupart du temps asymptomatiques (Ramirez et al. 2004).

Au fur et à mesure que les nombre des cas d'infections humaines et animales augmentaient, l'intérêt pour *Cryptosporidium* chez l'animal s'est intensifié, non seulement parce que les animaux ont été considérés comme source d'infection pour l'homme, mais également parce que l'infection par ce parasite pouvait avoir des répercussions économiques chez les animaux de production (Ramirez et al, 2004).

La cryptosporidiose du bétail est aujourd'hui particulièrement surveillée en raison des préjudices économiques qu'elle peut entraîner. L'infection a été rapportée chez plus de 150 espèces de mammifères (Xiao & Fayer, 2008).

Cette parasitose entraîne d'importantes pertes économiques chez les ruminants nouveau-nés de part la mortalité, la morbidité, les retards de croissance qu'elles entraînent et le coût des traitements des animaux (de Graaf et al, 1999).

Chez les ovins, La morbidité est de 80 à 100% en bergerie. 10 à 15 % des agneaux meurent et les survivants peuvent rester des non-valeurs économiques du fait du retard de croissance et les pertes de poids, (MEYER, 1998).

2.2. Les espèces en cause chez les ovins

La plupart des études de cryptosporidiose chez les ovins qui étaient effectuées avant les tests moléculaires c'est à dire les tests microscopiques supposent que les moutons ont été infectées par une seule espèce, le *Cryptosporidium parvum*, mais avec l'application des tests moléculaire, les espèces et les génotypes suivants ont été détectés dans excréments de moutons: *C. parvum*, *C. andersoni*, *C. hominis*, *C. bovis*, *C. bovis* comme, le génotype de

cervidés, le roman de bovin B génotype, de porc génotype II, le génotype marsupial, le roman génotype des moutons, et un génotype unique inconnue (Morgan et al, 1998;. McLauchlin et al, 2000;. Chalmers et al, 2002.; Ryan et al, 2005;. Navarro-i-Martinez et al, 2007;. Santi'n et al, 2007; Soltane et al, 2007; Elwin et Chalmers, 2008; Geurden et al, 2008; Mueller-Doblies et al, 2008).

Chez les ovins, Ryan et al ont génotypé les oocystes excrétés par des ovins en Australie : la majorité des oocystes appartenaient au *cervine genotype* et aucun à l'espèce *C. parvum* (Ryan et al., 2005). Une enquête auprès de 1647 échantillons de fèces de moutons ont rapporté que les génotypes les plus courants de *Cryptosporidium* sont : *cervine genotype* (55%) et *C. bovis* 23%, *C. bovis* comme génotype (~12%) et *c parvum* 3,5% (Santin et al 2007). Des faibles niveaux de *C. andersoni*, *c suis*, *marsupial genotype*, *pig genotype II*, *C. hominis* ont également été détectés (Ryan et al 2005).

Ces résultats sont confirmés par **Geurden et al** qui ont complété leur étude de prévalence chez l'agneau par une caractérisation moléculaire des isolats. Chez les agneaux, la quasi-totalité des isolats appartenait au *cervine genotype*. Donc, La présente étude suggère que les moutons sont plus susceptibles d'être infectés par *le cervine genotype* qu'avec *C. parvum*.

Mais *Cryptosporidium parvum* est celui qui nous intéresse principalement dans les élevages ovins puisque la plupart des études chez les ovins ont été basées sur la microscopie. *C. parvum* de type II, celui qui provoque une infection chez les agneaux, (Ebeid et Al. 2003; Fayer, 2004; Ramirez et al. 2004; Goma et Al. 2007).

Cryptosporidium parvum est considéré comme l'un des principaux agents pathogènes gastro-intestinaux chez les jeunes ruminants (de Graaf et al., 1999) et a été associée à la diarrhée et la mort dans les deux infections naturelles et expérimentales dans chevreaux et agneaux (Angus et al, 1982;. Koudela et Jiri, 1997; Johnson et al, 1999;. Castro-Hermida et al, 2002).

2.3. Prévalence

La cryptosporidiose est très répandue en élevage ovin mais les données chiffrées de prévalence sont moins fréquentes et très variables, en raison du faible nombre d'enquêtes réalisées dans les différents pays et régions et la diversité des méthodes utilisées pour la recherche du parasite donc la prévalence globale est difficile à estimer. En comparaison avec les travaux expérimentaux réalisés sur les veaux, peu de travaux sont recensés sur les caprins et sur les ovins donc peu de données sont disponibles.

l'infection chez le mouton est relativement commune et a été signalée dans le monde (Xiao et al, 1994;. Diaz et al, 1996. Giangaspero et al, 2005;. Ryan et al, 2005;. Ozmen et al, 2006;. Van der Giessen et al, 2006).

Le taux d'infection présente une grande variabilité en fonction de certains facteurs liés à l'animal (âge, statut clinique) et d'autre à l'environnement (type d'élevage, hygiène, le nombre de naissance, la densité animale dans les bâtiments, saison) (MORIN, 2002 ; NACIRI et al. 2007).

Chez le mouton, la cryptosporidiose a d'abord été décrit en Australie chez les agneaux de 1 à 3 semaines d'âge à la diarrhée en 1974 (Barker et Carbonell, 1974).). Cependant, par le début des années 1980, son rôle comme principal agent étiologique de la diarrhée chez les agneaux a été approuvé dans les études sur les infections expérimentales et naturelles (Angus et coll. ,1982). Par la suite, l'infection a été signalée dans différentes zones géographiques: l'Amérique, le Canada, l'Iran, Trinidad et Tobago, l'Espagne et l'Italie, avec la prévalence variant de 4% à 85% (Graaf et al. 1999).

La plus haute prévalence de l'infection a été trouvée le plus souvent chez les agneaux (Abd El-Wahed, 1999; Majewska et al, 2000. Sturdee et al, 2003;. Santi'n et al, 2007), en particulier ceux moins de 1 mois d'âge (Causape 'et al, Quilez et al .2002, Misic et al, .2006).

En Espagne, Quilez et al (2002) déclarent les résultats suivants :

Agneaux infectés âgés de moins de 7 jours à 90 jours d'âge dont ;

- 66,4% chez les agneaux âgés de 1 à 21 jours.
- 23% chez les agneaux âgés entre 22 et 90 jours
- 7,8% chez les brebis.

Les taux d'infection par les cryptosporidies étaient significativement plus élevés dans les diarrhéiques (79,4%) que chez les non-diarrhéiques agneaux (22,4%). En outre, l'intensité de l'infection a été corrélée avec la présence de symptômes cliniques.

La présence des agneaux diarrhéiques dans la ferme était le seul facteur significativement associé à un risque accru d'infection, car le pourcentage de troupeaux testés positifs était significativement plus élevé dans les fermes avec des agneaux diarrhéiques (91,3%) que chez ceux sans cas de diarrhée néonatale (12,5%). Aussi, le faible nombre d'agneaux dans la ferme et le nettoyage de la zone d'agnelage diminuent le risque d'infection.

Les moutons adultes peuvent agir en tant que porteurs asymptomatiques excréteurs de petits nombres d'oocystes dans l'environnement, qui a été montré pour augmenter en nombre dans la période périnatale et de contribuer au maintien de l'infection entre les périodes d'agnelage. (Xiao et al. 1994; Ortega-Mora et al. 1999).

Selon Tzipori et al(1998) les agneaux âgés de 5 à 8 jours et plus spécialement ceux âgés de 5 jours sont les plus sensibles à l'infestation parasitaire et contractent le plus souvent des signes cliniques sévères. En outre, selon Tzipori, les agneaux âgés de 30 jours et plus, sont souvent des excréteurs asymptomatiques.

Chez les agneaux âgés de moins d'un mois, le pic de prévalence a été observée à 21 jours d'âge, alors que dans d'autres études, il a été montré pour culminer chez les agneaux de moins de 14 jours d'âge (Xiao et al, 1993. Abd-El-Wahed, 1999; Causape et al. 2002).

La période prépatente augmente avec l'âge et inversement par rapport à la période patente. La diminution de la sévérité de la parasitose avec l'âge semble être indiquée par les résultats des nombreuses enquêtes épidémiologiques menées sur le terrain sur les ovins et par les travaux expérimentaux réalisés aussi bien sur les ovins.

Dans une autre étude sur la prévalence et les caractérisations moléculaires des espèces et les génotypes de *Cryptosporidium* chez les ovins dans le Maryland aux Etats-Unis a rapportée :

Une prévalence entre 10,1 et 68,3% pour le *Cryptosporidium* (Olson et al 1997; Ryan et al 2005) et qu'elle variait considérablement entre les brebis et les agneaux, avec une prévalence plus élevée chez les agneaux 77,4% et 23% pour les brebis.

La plupart des études antérieures sur la cryptosporidiose chez les moutons étaient basées sur la microscopie et les prévalences déclarées allant de 2,6 à 82% (Abd-El-Wahed, 1999; Ryan et al., 2005). La PCR a été constamment plus sensible que la microscopie. La prévalence par PCR, chez les brebis et les agneaux était de 25 et 77,4%, respectivement.

L'évolution clinique de la maladie chez les agneaux est similaire à celle des veaux, et la période de développement de l'agent est 3-4 jours. Une expérimentation conduite par ORTEGA-MORA et WRIGHT sur des agneaux infectés expérimentalement Clarifie cette notion de résistance des animaux liée à l'âge. Elle a montré clairement que l'importance de l'infection décroît en même temps qu'augmente l'âge des animaux au moment de la primo-infection. En effet, plus l'âge à la première infection est élevé, plus la période patente est raccourcie et moins l'excrétion oocystale quotidienne est massive. De plus, une augmentation de la période prépatente avec l'âge des animaux. L'immunité spécifique conférée à la suite de la primo-infection est protectrice et durable.

Une étude a été réalisée pour déterminer la prévalence chez des agneaux diarrhéiques et d'enquêter sur certains facteurs de risque à Kars province (région nord-est de l'Anatolie) en Turquie, comme l'hygiène et la densité animale: La prévalence a été de 38,8%. Les taux d'infection ont été détectés en tant que: 44,4% chez les agneaux d'une semaine d'âge, 37,5% chez les agneaux de deux semaine d'âge, 40,0% en trois semaine d'âge, et de 22,0% chez les agneaux de quatre semaine d'âge. Les fermes sont classées selon leurs conditions hygiéniques comme fine, moyenne, et mauvaise conditionnée et les pourcentages de contaminations par les cryptosporidies sont respectivement de 14,7%, 20,6% et 41,2%,(Bari Sari, Mükremi Ozkan Arslan, Yunus Gicik, Murat Kara, Gencay Ta kin Ta ç. 2008) .

Au Royaume-Uni, les taux d'infection semble être quelque peu inférieure: Sturdee et al. (2003) ont rapporté une incidence moyenne de 23%.

La prévalence de l'infection s'élève avec l'augmentation de la taille du troupeau et les mauvaises conditions d'hygiène. L'âge est le facteur de risque majeur dans la propagation de la cryptosporidiose, notamment le type d'élevage, l'heure de naissance et le sevrage ont été signalés à-être efficace sur le répandre des oocystes de *Cryptosporidium* (Ortega-Mora et Al.

1999; Castro-Hermida et al. 2002, Causape et al. 2002; Fayer 2004; Ryan et al. 2005; Delafosse et al., 2006; El-Khodery et Osman 2008).

La résistance liée à l'âge est indépendante du développement de l'immunité spécifique acquise puisque les animaux sont préservés du contact de *C. parvum* jusqu'à ce qu'ils soient infectés expérimentalement. La plus faible sensibilité à la primo-infection que présentent les animaux plus âgés est probablement liée à la plus grande maturité de leur système immunitaire.

2.4. Sources et mode de transmission du parasite

La contamination par les cryptosporidies s'effectue essentiellement par l'ingestion d'oocystes émis dans les fèces d'animaux contaminés (voie orale), même si d'autres voies se sont avérées efficaces expérimentalement (Bourgouin, 1996).

La contamination des agneaux peut s'effectuer soit directement par contact avec d'autres agneaux malades ou porteurs sains, par tétée des trayons souillés de leur mères ou par léchage d'un pelage contaminé ou de la litière, soit indirectement par consommation d'aliments ou d'eau souillés (Chartier, 2003 ; Tzipoli et Ward., 2002 ; Bourgouin ; de Graaf et al. 1999). Une auto-infection est également possible (Chartier, 2003).

Les animaux adultes, très rarement malades, jouent pourtant un rôle de réservoir de parasites en raison de l'excrétion résiduelle, qui s'accroît autour de la mise bas. (CHARTIER 2002a, NOORDEN et al. 2002, CASTRO-HERMIDA et al. 2005), Cette excrétion reste inférieure à celle retrouvée chez les jeunes malades : près de 17 % des brebis excrétaient des oocystes dans leurs fèces, alors qu'elles sembleraient cliniquement saines. Elles pourraient donc contaminer leurs petits dès la naissance, puis durant la période d'allaitement. La dose infectante peut être aussi faible que 100 oocystes (un animal malade libère jusqu'à dix millions d'oocystes par gramme de fèces).

Un autre réservoir est l'environnement contaminé par des oocystes très résistants (CHARTIER 2002a).

Pour certains auteurs, les rongeurs représentent également un réservoir non négligeable (MILLEMAN et al. 2003, FAYER 2004).

Les mouches et le matériel utilisé au contact des animaux peuvent assurer la transmission d'oocystes (MOORE et al. 2003).

Il n'existe aucun rapport d'infection fœtale chez les ovins. Bien que la transmission du parasite de la mère au fœtus n'ait pas été documentée, le constat sur plusieurs agneaux excréteurs des oocystes dans les matières fécales dans le premier jour de leur vie sont à titre indicatif que cette forme d'infection pourrait se produire et devrait être étudiée (Ortega-Mora et al., 1999).

2.5. Facteurs de risques

Tout d'abord, il convient de mentionner la grande capacité proliférative du parasite. A titre d'exemple, un animal infecté avec une diarrhée peut éliminer entre 1 et 10 millions d'oocystes par gramme de fèces. Tenant compte du fait que la masse fécale est quotidienne 150 g, l'animal excrète environ un million d'oocystes par jour. Depuis seulement 1-5 oocystes sont nécessaires pour infecter un animal nouveau-né, cela signifie que les oocystes éliminés en une seule journée est suffisante pour infecter plus de 100 millions d'animaux. (BUKHARI Z. ; SMITH H.V. 1997. NACIRI M. ; IACROIX S. ; LAURENT F. 2001).

Le second facteur important à prendre en compte est la résistance des oocystes. En effet, ils sont capables de survivre dans l'environnement, la literie, les murs, des mangeoires, des unités de consommation, des ustensiles, etc. aussi, ils peuvent maintenir leur capacité infectieuse pendant des périodes prolongées de temps, avec une grande résistance aux conditions environnementales et aux désinfectants usuels. Cela facilite grandement la diffusion de la maladie. Les seules conditions physiques qui affectent leur potentiel infectieux sont des températures extrêmes (-20°C pendant 8 heures; $> 60^{\circ}\text{C}$ pendant 30 minutes), et en particulier le séchage.

Le manque d'hygiène et les conditions sanitaires qui se trouvent sur des exploitations de ruminants contribuent également à la présence importante du parasite en particulier celles qui élèvent des moutons et des chèvres. Si l'hygiène et les conditions sanitaires sont d'ailleurs insuffisantes, les conditions d'une épidémie de diarrhée sont favorables. En ce sens, une prévalence accrue a été observée sur les grandes exploitations ovines, ou il y a l'entassement des animaux. La plus grande incidence de la maladie coïncide avec la fin de la période de reproduction stable, puisque le manque d'hygiène favorise la contamination progressive de l'environnement avec de grandes quantités d'oocystes, augmentant ainsi le risque d'infection.

Lors d'affections concomitantes, longtemps *C. parvum* était considéré comme une cause mineure de diarrhées, tout juste susceptible de compliquer une infection virale ou bactérienne. Ce n'est qu'en 1974 que son rôle dans un cas de diarrhée ovine a été reconnu pour la première fois.

Il est aujourd'hui considéré comme un agent étiologique majeur des diarrhées néonatales chez les ruminants mais il n'est pas rare d'avoir à faire à des associations d'agents entéropathogènes. (MOLINA et al. 1994). Ces infections mixtes seraient plus fréquentes et plus graves que les infections à *C. parvum* seule. (CHARTIER 2002a, RADOSTIS et al. 2000)

La cryptosporidiose coïncide surtout, dans le temps, avec les rotaviroses et coronaviroses. De telles associations sont fréquentes et un effet synergique existerait entre ces différents agents pathogènes.

La synergie rotavirus-*C. parvum* en particulier s'explique comme suit : le rotavirus altère les capacités digestives et absorbantes du jéjunum. Une compensation iléale peut atténuer les signes cliniques, à moins que l'iléon ne soit lui même endommagé par une infection à *C. parvum*. (NACIRI, 1994).

La coïnfection transforme ainsi une infection subclinique en infection clinique. D'autres associations ont été observées : *C. parvum* et Salmonella, Campylobacter, Clostridium, mais leurs interactions n'ont pas été démontrées. Il est néanmoins évident que l'infection par un de ces agents pathogènes affaiblit l'animal qui se défendra moins efficacement face à une deuxième infection. (NACIRI 1994, RADOSTIS et al. 2000)

Certains auteurs notent un effet saison : il y aurait plus de cas en hiver. Cette observation connaît plusieurs explications. L'hiver correspond à une période où les animaux sont plus confinés, en particulier pour les troupeaux qui pâturent mais aussi car c'est à ce moment que la litière peut manquer. Cette explication rejoint la notion de contamination massive de l'environnement. Pour d'autres, l'hiver est une période où le froid et le manque d'alimentation altèrent la résistance des animaux, il y aurait alors davantage de mortalité. (NACIRI, 1994)

La maladie survient essentiellement au cours de la seconde moitié des mises bas ce qui correspond à un environnement de plus en plus contaminé. (NACIRI 1994, CHARTIER 2001a). La période d'agnelage, au printemps / automne représente un facteur de risque très

important dans l'élevage ovin, ainsi le risque est accru lorsque les agnelages sont groupés dans le temps.

Les agneaux ont tendance à survivre à l'infection un peu mieux, mais les pertes peuvent être élevées si les animaux deviennent stressés, par exemple, de l'hypothermie si l'infection coïncide avec le taux de participation au cours d'une vague de froid ou humide.

Les élevages mixtes présentent un facteur de risque important par passage de l'infection entre veaux, agneaux, et chevreaux. Par exemple, une pâture servant d'aire de vêlage en janvier a été réutilisée comme aire d'agnelage en avril : la diarrhée cryptosporidienne qui s'est alors développée sur les agneaux a eu des conséquences désastreuses.

Le type d'élevage : La cryptosporidiose atteint les agneaux de bergerie pendant leur deuxième semaine de vie, et elle est très peu rencontrée en élevage de plein air. La morbidité peut atteindre 80 à 100% des agneaux et la mortalité peut toucher 10 à 15% des nouveau-nés. la maladie se rencontre surtout en bergerie (MEYER, 1998).

Certains facteurs sont liés à l'animal :

L'âge : La maladie s'observe essentiellement chez les jeunes ruminants âgés de cinq jours à trois semaines. (CHARTIER 2002a, DUBEY et al. 1990)

Il est admis que les animaux s'infectent dès la naissance. L'excrétion fécale d'oocystes débute autour de quatre jours d'âge, atteint un pic vers sept jours puis décline à partir du début de la troisième semaine. L'évolution des signes cliniques se superpose à celle de l'excrétion. (CHARTIER 2001a)

Le statut immunitaire : Chez le jeune ruminant, la relation entre la maladie et la qualité de l'immunité passive n'est pourtant pas démontrée. La prise du colostrum serait associée à une moindre excrétion fécale d'oocystes mais elle n'empêche pas la maladie. (RADOSTIS et al. 2000). Chez les ruminants jeunes, la cryptosporidiose, se produit très tôt dans la vie, quand le système immunitaire est encore immature et inadéquats pour induire une réponse qui permettra de contrôler l'infection (Ortega- Mora et al, 1993; Ortega-Mora et Wright, 1994).

Il est possible que l'alimentation joue également sur la sensibilité : un déficit énergétique (déficit quantitatif ou qualitatif en lait ou colostrum) augmente le taux de mortalité en élevage infecté. (RADOSTIS et al. 2000).

Chapitre III : Symptômes et lésions de la cryptosporidiose ovine

3.1. Symptômes

Chez les ovins, les caprins et les porcins, la symptomatologie est semblable à celle observée chez les bovins mais avec une mortalité plus élevée chez l'agneau et une morbidité plus précoce (Anderson, 1982a; Angus et coll., 1982; Tzipori et coll., 1982; Naciri, 1987).

Chez les agneaux, la période prépatente a oscillé entre 2 et 7 jours. Cette période augmente avec une diminution de la dose de l'agent infectieux ou à une augmentation de l'âge de l'animal.

Les principales manifestations cliniques de cryptosporidiose chez les agneaux nouveaux-nés sont les suivants: l'apathie, la dépression, l'abattement, l'anorexie, douleurs abdominales, et surtout une diarrhée accompagnée de l'effusion d'un grand nombre d'oocystes. Les matières fécales sont généralement de couleur jaune à jaune-verdâtre et d'une texture crémeuse (mucus), ont une consistance molle ou liquide et dégagent une forte odeur désagréable, (De Graff, D.C., E. Vanopdenbosch, L. M. Ortega-Mora H. Hayet Abbassi. J. Peeters. 1999).

La présence de sang dans les selles des agneaux n'est pas toujours enregistrée. (Mason et al. 1981).

Dans les cas bénins de la maladie, les agneaux ont la diarrhée pendant 3 à 5 jours et dans les cas les plus graves pour 1 à 2 semaines. La diarrhée coïncide généralement avec la période d'excrétion d'oocystes. La durée de l'excrétion des oocystes dépend de facteurs tels que l'âge ou du statut immunitaire des animaux. La cinétique de l'excrétion est généralement semblable chez les animaux expérimentalement et naturellement infectés.

La durée de l'excrétion oocystale est fortement corrélée avec celle des diarrhées particulièrement pour les sujets lourdement infestés et elle s'est poursuivie même 1 à 4 jours après la disparition des diarrhées pour certains sujets. Chez les ruminants, l'excrétion oocystale coïncide le plus souvent avec les épisodes diarrhéiques, certains sujets ont continué

même à éliminer le parasite de 1 à 4 jours après disparition des diarrhées. C est à dire une élimination du parasite en dehors des signes cliniques (TZIPORI et al.)

En plus de la diarrhée et des oocystes éliminés, les animaux manifestent typiquement l'anorexie, qui se traduit par la perte de poids et un retard de croissance au cours des premières semaines de la vie. La perte rapide des éléments nutritifs et les liquides au cours de la diarrhée résultent en une déshydratation sévère. Puisque les cellules intestinales sont perturbées, l'absorption des nutriments alimentaires est limitée, et l'animal perd plus de nutriments dans le tube digestif, (Mason et al, 1981;. Molina et al, 1994;. Castro-Hermida, 2005). Ce ci perturbe également le système immunitaire du jeune et le rend plus vulnérable à l'infection par d'autres agents pathogènes opportunistes (infection secondaire). Lorsque les réserves corporelles de nutriments tels que les minéraux et les protéines sont utilisés, la mort s'ensuit rapidement (Thamsborg et al.1990 a, b; Majewska et al, 2000).

Il a été signalé que le l'infection chez l'agneau peut être accompagnée par les agents comme; E. coli K99-, le rotavirus, Giardia sp. et Salmonella (Dubey et al 1990;. Thompson et al, 2005. Ozmen et al. 2006), Lors d'augmentations de pression parasitaire, il peut y avoir des morts, les dégâts des microvillosités de l'intestin grêle prédispose à infections combinées avec Escherichia coli et les rotavirus principalement et moins souvent, avec les coronavirus et Salmonella spp. Cette combinaison d'agents pathogènes entériques aggrave les signes cliniques et le pronostic, dans ces graves infections mixtes, les agneaux peuvent mourir dans les 2-3 jours de l'apparition de la diarrhée.

La mortalité, qui est généralement faible, elle augmente avec l'accompagnement de la concurrente infection ou des lacunes en matière de nutrition et de l'élevage (. De Graff et al 1999; Thompson et al, 2005.).

Les moutons adultes présentent le plus souvent une infection subclinique, ils sont considéré comme étant des porteur asymptomatiques avec une excrétion insidieuse des oocystes de Cryptosporidium dans leurs fèces entre les périodes d'agnelage (Xiao et Al. 1994; Ortega-Mora et al. 1999).

L'évolution de la maladie est tout variable, les agneaux peuvent guérir spontanément ou mourir. Il n'y a pas, par contre de passage à la chronicité. L'amaigrissement est habituellement très marqué, mais les agneaux guéris développent souvent une croissance

compensatrice, alors que d'autres restent des non valeurs économiques (S. Tzipori, K. W. Angus, E. W. Gray, et I. Campbell, Am. J.)

3.2. Lésions

Les études sur le développement des lésions au cours de la période d'incubation et l'évolution clinique de la maladie ont montré que, pendant cette période, le parasite prolifère principalement dans le jéjunum et l'iléon. Après le début de l'excrétion des oocystes (3 jours après le début de l'infection), les lésions peuvent se propager à d'autres parties de l'intestin grêle et du gros.

Chez les agneaux les plus infestés, le parasite peut se localiser dans le jéjunum et l'iléon, avec une concentration maximale dans les segments moyen et terminal de l'iléon, la partie postérieure de jéjunum. Dans le caecum et ceux du duodénum et du côlon la recherche des cryptosporidies s'est révélée négatif (ANGUS K.W., TZIPORI S., GRAY E.W.) ; (S. Tzipori, K. W. Angus, E. W. Gray, et I. Campbell.). L'intestin grêle distal est généralement le plus gravement affecté.

Les lésions macroscopiques peuvent consister en une hyperémie de la muqueuse intestinale, avec un contenu intestinal plus au moins liquide et jaunâtre. Coloration fécale des membres postérieurs et la pâleur des tissus des carcasses sont communs. Les animaux atteints de diarrhée persistante affiche des degrés divers de déshydratation, émaciation, et une atrophie séreuse de la graisse. Aussi en plus des signes d'une entérite et de la colite, le colon et le caecum sont souvent distendus et une hypertrophie des ganglions mésentériques.

Les principales lésions microscopiques dues au cryptosporidies dans les différents segments intestinales sont: une atrophie villositaire, une diminution de la hauteur de l'épithélium qui passe du cylindrique à cubique voir même aplati dans certaines régions des sommets des villosités. . En plus, de l'aplatissement des entérocytes, une détérioration du ciment intercellulaire et une dénudation du chorion sont observés surtout dans l'apex des villosités. Une fusion des villosités intestinales et une hyperplasie des cryptes glandulaires sont surtout observées dans les segments iléaux infestées. Au sein du chorion des villosités, une infiltration cellulaire représentée particulièrement par les macrophages et les lymphocytes et à un degré moindre les granulocytes éosinophiles et neutrophiles, est observée dans les zones sous-jacentes à l'épithélium où la présence du parasite est très marquée. Deux autres faits caractérisant cette infection, sont l'hypertrophie très marquée des ganglions

mésentériques et des plaques de Peyer. (S. Tzipori, K. W. 1981. Angus, E. W. Gray, et I. Campbell.1982).

Aucune modification significative des paramètres hématologiques et biochimiques n'est observée au cours de l'infection à *C. parvum* chez les ruminants nouveau-nés seules quelques variations de ces paramètres ont été décrits :

- Une hémococoncentration et une hyponatrémie, résultant des pertes en eau et en électrolytes, peuvent être enregistrées

Une augmentation de l'urée et de la créatinine sériques sont parfois notées, indiquant une hypovolémie et une perfusion rénale réduite

SIMPSON (1994) a prélevé l'humeur aqueuse sur des veaux et des agneaux de moins de trois semaines d'âge morts d'entérite. . Il constate alors de forts taux d'urée sur les animaux ayant succombé à l'infection cryptosporidienne. En outre, il interprète cette élévation de l'urémie comme le résultat d'une insuffisance rénale, mais avance également le rôle possible de l'augmentation du catabolisme protéique.

Il ya de nombreux rapports de cas décrivant des patients humains avec cryptosporidies dans les sites extra-intestinales comme la vésicule biliaire, voies biliaires, canaux pancréatiques et tract8 respiratoire. Infections extra-intestinales par *C. parvum*, y compris la vésicule biliaire, les ganglions lymphatiques mésentériques, de la trachée, les poumons et l'utérus, ont également été détectés chez des moutons abattus dans abattoirs. En dépit d'être capables de coloniser des sites extra-intestinaux, il n'existe aucun rapport d'infection foetale chez les ovins.

Chartier (1996) rapporte que le parasite *Cryptosporidium* a été trouvé sur la muqueuse de la trachée dans 21% des cas de cryptosporidiose sur des agneaux âgés de 5 à 30 jours, et aussi dans la vésicule biliaire de 17% des cas.

3.3. PATHOGÉNICITÉ

À l'heure actuelle, les mécanismes physiopathologiques de la diarrhée induite par *Cryptosporidium* sont mal définis. Des études chez les veaux axéniques mono-infectés avec *C. parvum* suggèrent que la malabsorption et une mauvaise digestion dans l'intestin grêle couplée avec une malabsorption dans le gros intestin, et des perturbations hydro électrolytiques sont les principaux facteurs responsables de la diarrhée chez les animaux atteints de cryptosporidiose.

C. parvum parasite la bordure en brosse des entérocytes, il se situe dans une vacuole parasitophore issue de la membrane plasmique et des microvillosités. Sa multiplication aboutit à la destruction des microvillosités et des modifications morphologiques importantes de l'épithélium intestinal, à l'origine d'une malabsorption, une maldigestion et des perturbations hydro électrolytiques. Ce remaniement de la muqueuse intestinale entraîne une diminution de la surface d'absorption, une diminution d'absorption d'eau, d'électrolytes et de certains nutriments (notamment certains oses, des vitamines, Na...), une diminution des capacités enzymatiques (une diminution de l'activité de la lactase et de la sucrase), et une diminution relative de la fonction digestive des portions intestinales touchées. (TZIPORI et WARD 2002).

Un processus sécrétoire (inflammatoire), dû à une production accrue de prostaglandines au niveau de la muqueuse et à l'hyperplasie des cryptes, la libération des molécules pro-inflammatoires par les cellules immunitaires et des processus apoptotiques renforcent la diarrhée, par exsudation. Ces phénomènes expliquent la diarrhée et la perte de poids observées. (CHAMBON 1990, SMITH et SHERMAN 1994, CHARTIER 2002a, FAYER 2004).

Au niveau intestinal, la parasitose détermine une réaction inflammatoire de la muqueuse avec infiltration lymphoplasmocytaire, une hyperplasie des cryptes et une atrophie villositaire (Berg et coll., 1978; Cohen et coll., 1984; Argenzio et coll., 1990). Ces lésions sont similaires à celles qui accompagnent une réponse immunitaire à médiation cellulaire (Moon et coll., 1985).

Quelques travaux sont effectués dans ce sens ont montré que, chez les ruminants, il se produit une diminution de l'absorption des xyloses (Moon et coll., 1985). Chez le porcelet (Tzipori et coll., 1982) et le veau (Tzipori, 1983), les activités des enzymes de la digestion mesurées à différents niveaux de l'intestin, ont un niveau bas, ce qui reflète une baisse de la digestion et une malabsorption des nutriments.

Chez l'Homme, l'utilisation des marqueurs de la phase liquide du contenu intestinal chez des personnes infectées par le virus du SIDA et par les cryptosporidies a permis de constater une importante augmentation des sécrétions au niveau du duodénum et du jéjunum, et une absorption normale d'eau et de sodium dans l'iléon et dans le côlon (Andreani et coll., 1983).

En fin, la diarrhée soit due à une malabsorption chez l'animal et à une hypersécrétion chez l'Homme. Sachant que la muqueuse intestinale agit comme une membrane semi-perméable et que l'absorption de l'eau se fait passivement selon les lois physiques, certains auteurs pensent que la diminution de la surface d'échange suite à l'atrophie des villosités, ainsi que la perte de plusieurs enzymes, entraînent, non pas une hypersécrétion, mais une malabsorption et donc une rétention d'eau dans la lumière intestinale ce qui se traduit par une diarrhée osmotique (Padykula et coll., 1961).

3.4. L'immunité

La réponse immune envers les cryptosporidies met en jeu à la fois des mécanismes humoraux et cellulaires. Quand l'une ou l'autre de ces réponses fait défaut, l'organisme ne se débarrasse pas de parasites (bourgouin, 1996 ;zu et al.,1992).

La réponse humorale est caractérisée par la production des IGA, IGG, IGM. Ces différentes classes d'immunoglobulines ont été détectées dans le sérum et même dans les matières fécales des animaux infectés. Ces anticorps renforcent l'action de l'immunité cellulaire pour éliminer l'infection et protéger contre une ré-infestation.

L'immunité cellulaire joue un rôle très important dans la protection et le contrôle de l'infection. (Fayer et al.). Une réponse immunitaire se traduit par un nombre accru de lymphocytes TCD4 et TCD8 et par la production de cytokines (IL12, INF) (FAYER ET AL., 1998). En conséquence, il apparait que les cellules TCD4 et certaines cytokines (IL12, INF) constituent les éléments clés qui initient la réponse immune spécifique envers ce protozoaire et jouent un rôle majeur dans le contrôle de l'infection (ROMANI et al ., 1997).

Il semble donc que l'intégrité de l'immunité cellulaire et humorale soit nécessaire au rétablissement des sujets infectés. Mais, la défense de l'organisme contre la cryptosporidiose se fasse principalement via l'immunité à médiation cellulaire, les anticorps pourraient jouer un rôle majeur en inhibant l'attachement de futur oocyste à la surface des cellules intestinales.

Actuellement, il n'existe pas un vaccin contre la cryptosporidiose, mais le colostrum semble jouer un rôle protecteur du fait qu'il diminue la gravité des autres maladies entériques néonatales.

Chapitre IV : Différentes techniques de mise en évidence des cryptosporidies

4.1. Diagnostic clinique :

L'ensemble des manifestations cliniques de la cryptosporidiose ovine ne sont pas suffisamment spécifique pour fournir un diagnostic de certitude au praticien.

Certains critères cliniques et épidémiologiques sont susceptible de faire suspecter l'intervention du protozoaire *Cryptosporidium* dans la diarrhée néonatale observée : l'épisode diarrhéiques apparait généralement de façon brutale parfois sévère et prend un aspect collectif sur des jeunes agneaux âgés généralement de 5 à 20 jours au cour de la seconde moitié des mises bas (agnelage), avec mortalité et morbidité importante, et aussi le recours à des traitements classiques notamment les agents antimicrobiens s'avère inefficace.

4.2. Diagnostic différentiel :

Le diagnostic différentiel n'est pas simple car la symptomatologie de la cryptosporidiose est commune à de nombreuses maladies infectieuses à tropisme digestifs qu'on peut trouver chez les ovins comme : Colibacillose, Salmonellose, Coccidiose, Giardiose, les diarrhées causées par Rotavirus, Coronavirus, et les toxi-infections (*Clostridium perfringens*) .donc le recours au laboratoire est indispensable. (CHARTIER 2002a, MILLEMANN et al. 2003, SMITH et SHERMAN 1994, RADOSTIS et al. 2000)

4.3. Diagnostic de laboratoire :

L'élément infectant (l'oocyste) n'est pas facile à mettre en évidence du fait de sa petite taille. Le diagnostic de cette maladie nécessite la mise en évidence de sa forme de résistance caractéristique par diverses techniques :

*Des techniques d'enrichissement par flottation ou sédimentation suivies éventuellement d'une coloration.

*Des techniques de coloration.

*Des méthodes immunologiques (ELISA, immunofluorescence, hémagglutination, et autres).

*Des méthodes de reconnaissance de l'acide nucléique du parasite.

4.3.1. Les techniques de concentration

Ces techniques consistent en la séparation et la concentration des parasites dans un faible volume de matières fécales (Loson, 1996).

Il existe plusieurs méthodes basées la plupart du temps soit sur la flottation, soit sur la sédimentation. Des phases de filtration des matières fécales et de centrifugation améliorent ces techniques d'enrichissement (OIE, 2005). Aucune méthode de flottation ou de sédimentation n'est spécifique pour les oocystes de *Cryptosporidium*.

La concentration des parasites dans les prélèvements analysés augmente le rendement des autres techniques de diagnostic en particulier les méthodes de coloration et les tests immunologique.

4.3.2.1. La technique de flottation :

Le principe de cette méthode utilise un milieu liquide qui est plus dense que les oocystes à concentrer. Quand ils sont mélangés au liquide, les oocystes remontent à la surface, peuvent être récoltés et détectés selon une technique appropriée (OIE, 2005). Plusieurs solutions sont utilisées dans ce principe de flottation : solution au saccharose et au sucrose, solution de chlorure de sodium, solution de sulfate de zinc, solution de bichromate de potassium et solution d'iodomercurate de potassium.

La flottation au sucrose est la technique de référence. En plus de son caractère quantitatif, sa sensibilité est plus élevée que les techniques de coloration avec un seuil de détection de 4000 O.P.G.(Morin, 2002) .

4.3.2.2. La technique de sédimentation :

Cette méthode utilise des liquides de mélange comme formol / éther et formol / acétate d'éthyle. Elle est souvent associée à une centrifugation des prélèvements analysés ou les parasites seront plus rapidement déposés, tendant à l'amélioration du rendement de cette technique (O.I.E, 2005).

Parmi les techniques d'enrichissement se basant sur la sédimentation, il faut citer celle de Ritchie simplifiée par Allen et Redly utilisant le formol / éther. La concentration par sédimentation utilise des liquides de mélange : formol-éther, formol-acétate d'éthyle, eau-éther.

La sédimentation permet d'obtenir des oocystes très purifiés et son seuil de détection fournis est de l'ordre de 10000 à 500000 O.P.G. (Morin, 2002).

Un examen direct du prélèvement concentré peut être réalisé pour visualiser les oocystes de *Cryptosporidium* sans recourir aux autres techniques. Cependant, la lecture directe reste difficile à réaliser nécessitant un œil exercé.

Les méthodes de concentration comme la flottation au sucrose, sont plus sensibles et permettent une quantification des résultats. Cependant, les inconvénients subsistent encore et concernent la difficulté de lecture et surtout la lourdeur de mise en évidence les oocystes (Chartier et al, 2002).

4.3.2. Les Techniques de coloration :

Les techniques de colorations sont rapides, simples et peu onéreuses .Plusieurs méthodes de ont été développées pour la mise en évidence des oocystes de *Cryptosporidium* dans les fèces des animaux et l'homme. Deux ou trois techniques apparaissent efficaces et plus utilisées pour détecter les oocystes fécaux des cryptosporidies, dont le diagnostic de routine se base sur ces méthodes (Chartier et al , 2002 , (POLACK et al. 1983, CHARTIER et al. 2002),mais ces techniques sont caractérisées par une relative subjectivité de la lecture ,

pouvant entraîner des défauts de spécificité et s'accompagner d'une sensibilité relative et un résultat de type qualitatif (Chartier et al, 2002).

4.3.2.1. La coloration de Ziehl Neelsen modifiée :

Cette technique est considérée comme la coloration de référence dans la mise en évidence des cryptosporidies (CHAMBON 1990, CHARTIER et al. 2002).

il en existe plusieurs variantes, telle que celle modifiée par Henriksen et Pohlenz (1981), Cette variante se rapproche le plus possible du Ziehl Neelsen utilisé en bactériologie. Elle permet de visualiser les ookystes colorés par la fuchsine, ils apparaissent rouges sur fond bleu. (ANONYME 2001).. Elle est utilisée pour mettre en évidence des cryptosporidies, qui sont alors visibles au microscope comme de petites cellules rouges sur fond vert, avec des grains plus sombres correspondant aux sporozoïtes.

Technique de Ziehl Neelsen modifiée par Garcia (1983), Les oocystes de *Cryptosporidium* sont colorés en rouge vif sur un fond vert. Cette technique permet de différencier les cryptosporidies des levures qui se colorent en vert.

4.3.2.2 La coloration à l'auramine phénol :

Cette technique de coloration consiste en l'utilisant d'un fluorochrome composé d'auramine et de phénol .les frottis préparés soit par les techniques d'enrichissement, soit directement, sont colorés avec réactif. Ensuite, une phase de décoloration avec l'alcool acide et une contre coloration avec le permanganate de potassium succèdent à la coloration des lames. la lecture se fait avec un microscope à épifluorescence (O.I.E, 2005).

4.3.2.3 Technique de Heine :

Elle a été décrite par Heine en 1982, et dans la quelle, les fèces analysées sont mélangées avec la fuschine de ziehl puis étalées en couche mince. Immédiatement après séchage, les frottis préparés sont recouverts d'huile d'immersion puis d'une lamelle et examinés au grossissement x 100 à l'aide d'un microscope à contraste de phase. Cette méthode est douée d'un caractère semi quantitatif et le nombre d'oocystes est compté par champ microscopique. une note de 0 à 5 est attribuée : 0 : (absence d'oocystes) ; 4 : (21-30 oocystes) ; 5 : (plus de 30 oocystes) (Chartier et al , 2002). Les oocystes apparaissent brillants sur un fond rouge et plus sombre. (Heine et al. 1982).

4.3.3. Examens immunologiques :

Plusieurs approches immunologiques pour la détection des oocystes et/ou leurs antigènes ont été démontrées comme étant utiles. Ces approches s'appuient sur l'utilisation des anticorps anticryptosporidiens mono ou polyclonaux conjugués aux marqueurs fluorescents (I.F.D) , aux enzymes (ELISA) et aux autres supports (microsphères de latex) (Chartier et al , 2002 ; O.I.E , 2005).

La technique ELISA a été utilisée pour révéler les oocystes et/ou leurs antigènes en particulier Ceux de l'espèce *C.parvum* dans les matières fécales. Elle utilise des anticorps monoclonaux dirigés contre un antigène de surface de *C.parvum* de poids moléculaire de 20 kda. Cette technique apparait plus simple que celles utilisant l'examen microscopique et reste un test de confirmation par rapport aux technique de coloration (El shewy et al, 1994).

L'immunofluorescence directe a le même principe que celui d'ELISA. Elle dispose des anticorps spécifiques de genre et des épitopes de surface de cryptosporidies qui sont marqués avec un fluorogène permettant de visualiser sous un microscope particulier, les oocystes au cas où ils seraient présents dans l'échantillon analysé (O.I.E, 2005).

D'autres techniques immunologiques ont été développées pour la recherche des cryptosporidies surtout pour *C.parvum* dans les fèces, notant la technologie d'agglutination au latex qui est basée sur l'utilisation des particules microsphères de latex sensibilisés par des anticorps anti-cryptosporidiens obtenus à partir des lapins hyperimmunisés par des oocystes de *Cryptosporidium* . L'avantage de cette technique consiste en d'autre part en la mise en évidence les parasites dans les fèces, la détection des fragments et des antigènes pariétaux. En outre, elle est utilisée pour la recherche de ces parasites dans l'eau après filtration (tee et al, 1993).

Ainsi l'hémagglutination passive vise la détection des oocystes et leurs antigènes dans les fèces du veau. elle implique l'utilisation des hématies sensibilisées par des anticorps anti-cryptosporidiens dirigés contre les antigènes de surface de *C.parvum*. Cette technique apparait simple et objective (farrington et al, 1995).

Les méthodes immunologiques en particulier l'ELISA et IFD ont une haute sensibilité et une bonne spécificité. La réalisation de ces techniques reste cependant, relativement lourde (Chartier et al, 2002).

4.3.4. Les méthodes de reconnaissance de l'acide nucléique :

Ces méthodes incluent essentiellement la PCR-RFLP qui permet de distinguer les différentes espèces et des génotypes, est basée sur l'étude de trois locus de gènes (deux locus ARNr 18s et un pour la protéine de la paroi oocystale).

La PCR est plus sensible que les tests conventionnels (coloration) et immunologiques pour détecter les oocystes fécaux. En outre, elle est utilisée pour la recherche des cryptosporidies dans l'eau et les aliments (O.I.E, 2005).

Chapitre IV : moyens de traitement et de prophylaxie

5.1. Traitement médical :

Le traitement de la cryptosporidiose est pratiquement impossible car aucune molécule n'a aujourd'hui une efficacité suffisante pour enrayer de manière significative l'évolution de la maladie.

Un grand nombre de médicaments ont été utilisés, y compris les agents coccidiostatiques et des antibiotiques à large spectre, mais peu ont été montré pour être efficace.

Ainsi, en l'absence de traitements efficaces totalement spécifiques, la gestion des symptômes est une préoccupation prioritaire une fois épidémie de diarrhée est apparue sur une exploitation. L'application de ces mesures peuvent prévenir la mortalité dans le troupeau et même de réduire les pertes associées à la morbidité à des niveaux tolérables.

La seule alternative sur les animaux malades est d'appliquer un traitement symptomatique visant à limiter les conséquences de la diarrhée (antidiarrhéiques, réhydratants), cela concerne surtout des animaux de haute valeur économique (les veaux), mais ce traitement n'est pas habituel en élevage ovin en raison du grand nombre des ovins et leur faible valeur économique.

- Chez les ruminants domestiques, deux molécules seulement ont donné des résultats significatifs en conditions expérimentales et naturelles : le lactate d'halofuginone et la paromomycine. Elles sont utilisées sur le terrain. Elles ne permettent pas un contrôle total du parasite. (CHARTIER 2002a.)

. L'utilisation de ces produits donne lieu à une réduction partielle de l'élimination fécale des oocystes et, dans certains cas, la diarrhée associée est moins grave à la suite.

Le décoquinatate et le lasalocide sont deux molécules coccidiostatiques, parfois utilisées empiriquement sur le terrain pour traiter la cryptosporidiose. Elles ont montré une certaine efficacité au cours d'essais en conditions expérimentales. Cette efficacité reste controversée. (CHARTIER 2002a).

La α -cyclodextrine et la β -cyclodextrine ont récemment donné des résultats prometteurs au cours d'essais expérimentaux *in vitro* et *in vivo*. (CASTRO-HERMIDA et al. 2000a, CASTRO-HERMIDA et al. 2001a, CASTRO-HERMIDA et al. 2001b, CASTROHERMIDA et ARES-MAZAS 2003, CASTRO-HERMIDA et al. 2004)

- Prévenir des surinfections :

L'utilisation des antibiotiques doivent être pris en charge par des tests de laboratoire confirmant la présence de bactéries entéropathogènes autres que «les cryptosporidies». L'antibiogramme correspondant définit à leur tour l'antibiotique de choix dans chaque cas.

Certains auteurs préconisent de ne recourir aux antibiotiques qu'en cas de co infections avérées par des bactéries. Les antibiotiques agissent en effet sur la flore intestinale normale ce qui peut réduire la résistance aux cryptosporidies. (DUBEY et al. 1990).

- Des pistes vaccinales (protection des nouveau-nés via l'immunisation des mères) sont en cours d'exploration mais aucun résultat concret n'est disponible à l'heure actuelle. (CHARTIER 2001b, CHARTIER 2002a, GUILLET 2005).

- Inhibiteurs de la motilité intestinale ne devrait pas être utilisé, car, bien qu'ils suppriment la diarrhée, leur utilisation est contre-productif en ce que les selles d'exercer une fonction de protection en facilitant l'élimination des agents pathogènes dans les fèces. L'utilisation de ces produits provoque à la fois les agents pathogènes et leurs toxines qui doivent être retenus dans l'intestin, facilitant ainsi leur fixation et d'absorption.

Les molécules précédemment citées feront donc l'objet de paragraphes détaillés :

a- Le lactate d'halofuginone :

L'halofuginone est une molécule synthétique dérivé de la fébrifugine (isolée d'une plante asiatique : *Dichroa febrifuga*). Il appartient au groupe chimique des quinazolinones. (HOECHST ROUSSEL VET 2000, CHAMBON 1990)

Le lactate d'halofuginone agit sur les stades précoces du parasite et est cryptosporidiostatique : les parasites ne sont pas complètement éliminés mais leur développement est retardé. (VILLACORTA 1991, CHARTIER 2001b, HOECHST ROUSSEL VET 2000)

Cette molécule a d'abord été testée en 1989 chez des agneaux infectés expérimentalement par *C. parvum*. (NACIRI et YVORE 1989)

Tous les agneaux de l'essai ont été inoculés à l'âge de un jour (J0). Les traitements ont débuté deux jours plus tard (donc avant l'apparition des symptômes) et ont été maintenus 3 jours ou 5 jours selon le lot.

Les animaux ont reçu 0,5 mg de lactate d'halofuginone par kg de poids vif et par jour en dilution dans de l'eau, per os.

Ces administrations répétées ont considérablement réduit l'excrétion d'ookystes, qui a même été nulle dans le lot traité 5 jours. Les deux lots traités n'ont pas eu de diarrhées. Leur gain de poids a été significativement plus élevé dans les lots traités par rapport au lot témoin entre J4 et J8 ($p < 0,05$).

La réduction d'appétit a été le seul effet secondaire remarquable. Plus le traitement était long, plus elle était marquée.

Ces premiers résultats ont encouragé à évaluer l'efficacité du lactate d'halofuginone chez des espèces plus sensibles à *C. parvum*, veaux et chevreaux, dans lesquelles le bénéfice clinique et économique pourrait s'avérer supérieur.

b-La paromomycine

La paromomycine est un antibiotique de la famille des aminosides. Elle possède un large spectre antibactérien, Elle est active également contre plusieurs protozoaires parasites du tube digestif tels *Entamoeba histolytica* ou *Giardia intestinalis* et contre les leishmanies. (CLEZY et al. 1991, MARSHALL et FLANIGAN 1992, MANCASSOLA et al. 1994)

Elle pourrait tenir son activité anti-cryptosporidienne de son aptitude à inhiber l'activité de ribosomes impliqués dans la synthèse de protéines, très amplifiée au cours de la multiplication du parasite. Cette hypothèse repose sur les données relatives au mode d'action d'autres aminoglycosides. (MARSHALL et FLANIGAN 1992, HAMMEL et al. 1992).

La posologie efficace est de 100 mg/kg/jour pendant une dizaine de jours, per os. Le traitement doit commencer au cours des deux premiers jours de vie. (CHARTIER 2001b)

c-Le décoquinate :

Le décoquinate est une molécule de synthèse coccidiostatique. (MOORE et al. 2003).

Les doses efficaces chez les agneaux : 1 mg/kg/jour pendant 9 semaines à partir de l'entrée en atelier d'engraissement (Dictionnaire des Médicaments Vétérinaires 2003).

Son efficacité dans la prévention de la cryptosporidiose est controversée. Des vétérinaires utilisent quand même le décoquinate pour prévenir la cryptosporidiose chez les jeunes ruminants. (MOORE et al. 2003, LINDSAY et al. 2000).

d-Le lasalocide :

Le lasalocide est un antibiotique ionophore coccidiostatique. Différents essais ont montré que le lasalocide était également doté d'une activité anti-cryptosporidienne, mais cette molécule est a priori toxique, en particulier chez le veau(CASTRO-HERMIDA et al. 2000b) .

Actuellement, le lasalocide est utilisé par certains praticiens pour traiter la cryptosporidiose chez les agneaux. La dose recommandée est 3,75 mg/kg/jour pendant 3 jours. Lorsqu'un agneau est confirmé infecté par *C. parvum*, tous les agneaux du même lot doivent être traités. Il est inutile de traiter préventivement tous les futurs jeunes à naître des lots suivants. (PONCELET 2003)

e-Les cyclodextrines :

Les cyclodextrines sont des excipients oligosaccharidiques qui ont montré une efficacité inattendue dans le traitement préventif et curatif de la cryptosporidiose in vitro et dans différents modèles animaux infectés expérimentalement ou naturellement. (CASTRO-HERMIDA et al. 2000a).

5.2. Lutte sanitaire :

En premier lieu, il est essentiel d'isoler les animaux diarrhéiques dans un domaine concret, ou, si possible dans un bâtiment séparé car comme cela a déjà été commenté ci-dessus ces animaux sont l' principale source d'infection pour les autres animaux sains nés.

La première mesure à appliquer à des animaux diarrhéiques devrait être la restriction totale de lait (maternel ou artificiel), en le remplaçant par des solutions contenant des électrolytes par voie orale (principalement du sodium) avec du glucose et des acides aminés - mais du point de vue pratique, ces mesures sont difficiles à appliquer dans la plupart des cas. La justification de la restriction du lait, c'est que l'animal de lait avec un intestin endommagé ne pas correctement digérer le lait, provoquant ainsi la dernière à se coaguler et de favoriser la croissance des autres bactéries entéropathogènes , aggravant ainsi le processus diarrhéique. Une autre considération importante est l'administration d'une formulation à base de *Lactobacillus* pour aider à restaurer la flore intestinale normale.

La prévention s'appuie à la fois sur des procédures globales d'hygiène et sur l'emploi de molécules spécifiques. De manière globale, on cherchera à avoir des locaux les plus sains possible pour les jeunes ; le nettoyage et la désinfection par l'ammoniac gazeux (Oocide®) représentent les solutions les plus efficaces pour réduire le nombre ookystes dans l'environnement. Le maintien des meilleures conditions d'hygiène sera recherché en particulier durant les 2 premières semaines de vie, on veillera à éviter de mélanger des animaux très réceptifs (1 à 2 semaines) avec des animaux plus âgés.

Le contrôle médicamenteux est contraignant, coûteux et ne doit pas être envisagé de manière systématique en début de campagne. (DUBEY et al. 1990, HARP et GOFF 1998, CHARTIER 2002a, MOORE et al. 2003).

L'importance du colostrum dans la protection des ruminants nouveau-nés contre l'infection par *C. parvum* est un point très précieux pour lutter contre. Dans des conditions sur le terrain, les anticorps acquis passivement ne protègent pas des veaux (Harp J A, Woodmansee 1989) et les agneaux contre l'infection naturellement acquise (Ortega-Mora L M, Troncoso J M, Rojo-Vazquez F A, Gomez-Bautista M. 1993).

Toutefois, les deux veaux et agneaux nourris avec du colostrum de la mère immunisés avec des titres élevés d'anticorps spécifique ont été partiellement protégés contre l'infection. Immunoprophylaxie de la cryptosporidiose est plus objet de discussions approfondies dans une autre contribution de ce numéro spécial de la revue *International Journal for Parasitology* (Fayer R. 1989. Naciri M .1994).

PARTIE EXPERIMENTALE

Objectifs

L'objectif de notre enquête est l'estimation de la prévalence de la cryptosporidiose ovine dans quelques élevages de deux régions (Tlemcen et Bel Abbasse). Ainsi, la récolte des données bibliographiques concernant les différentes études réalisées dans le monde sur le taux d'infestation par ce protozoaire dans les exploitations ovines et l'implication de plusieurs facteurs sur le développement de cette maladie parasitaire, fait l'Object de notre étude.

1. Matériels et Méthodes

1.1 : technique de prélèvement

Durant la période compris entre le mois de décembre et le mois de mars, 125 prélèvements de fèces ont été récoltés à partir de deux régions. Ces échantillons ont été récupérés directement par stimulation de l'orifice anal des animaux dans des sachets en plastiques et ensuite ont été stockés dans une température de réfrigération (4 C°).Toutes les informations pour chaque animal sont enregistrés (âge, sexe, race,).

Tableau 3: l'âge des différents animaux prélevés.

AGE	< 15 JOURS	15- 30 JOURS	Brebis (> an)
NOMBRE DE PRELEVEMENTS	40	57	28

Pour le sexe des agneaux prélevés, 45 sont des femelles et 52 sont des males et 28 brebis.

Les animaux sont de la race Hamra.

1.2. Technique d'analyse des matières fécales

La mise en évidence des cryptosporidies dans les fèces fécales des animaux est assurée par deux techniques :

1.2.1. **Technique formol éther** : cette méthode consiste à mélanger les fèces avec le formol à 10 % et éther. Cette méthode permet concentrer les parasites dans une petite quantité de fèces par rapport au volume totale ajouté, donc est une technique d'enrichissement.

1.2.2. **Technique de colorations** : plusieurs méthodes de colorations sont utilisables pour la recherche des cryptosporidies. La coloration de ziehl nelsen modifiée qui se base sur l'utilisation de la fuschine phéniquée colorant rose et le vert de malachite.

L'examen microscopique des cryptosporidies est réalisée sous l'objectif 100x avec l'huile d'émersion.

2 .Résultats :

Nos prélèvements ont été perdu ce qui n'a pas permet d'estimer le taux des animaux excréteurs et la prévalence de la cryptosporidiose ovine de ces régions.

Dans cette étude on présente des résultats de différentes études réalisées dans plusieurs régions du monde sur la prévalence de la cryptosporidiose ovine.

1- Prévalence en GREECE:

Des prélèvements fécaux ont été effectués sur 523 ovins laitiers de race locale provenant de 31 troupeaux avec des antécédents de diarrhée chez les agneaux et ils ont été examinés après coloration de ZN entre le mois de Janvier et le mois Mars 2007).

Tableau 4 : prévalence de la cryptosporidiose dans différents groupes d'agneaux :

	Groupe A	groupe B	Groupe C
Infectés	114 (55.07)	12 (15.18%)	26 (10.97%)
Non infectés	93 (44.93%)	67 (84.82%)	211 (89.03%)
total	207	79	237

Les échantillons recueillis ont été répartis en trois groupes :

- Groupe A : agneaux de moins de 14 jours (tous prélevés).
- Groupe B : agneaux de plus de 14 jours et jusqu'à 30 jours (prélèvements sur 50 % des animaux).
- Groupe C : brebis > 1 an et demi (prélèvements sur 10 % des animaux).

Au total le nombre d'infestés dans les 31 troupeaux variait de 0 à 42 % avec la répartition suivante : Groupe A : 0 à 100 %, Groupe B : 0 à 22,2 %, Groupe C : 0 à 30 %.

PARTIE EXPERIMENTALE

Les résultats ont montré que, au total, 152 sur 523 (29,06%) le pourcentage des moutons infectés était comme suit: 75% (114/152) étaient des agneaux du groupe A, 7,89% (12/152) agneaux du groupe B et 17,11% (26/152) des brebis du groupe C.,(N. PANOUSIS, A. DIAKOU, N. GIADIS, E. PARADOPOULOS, H.KARATZIAS , S.HARALAMPIDIS)

2- AU MEXIQUE :

-une étude a été réalisée pour déterminer la prévalence de *Cryptosporidium* chez les ovins (agneaux et les brebis) dans la Région du Nord dans l'État du Mexique. Les données ont été recueillies par de Ziehl-Neelsen modifiée.

Tableau 5 : Distribution de l'échantillon par stade de la production.

Population exposée		Nombre d'échantillons par STADE DE LA PRODUCTION (%)	
Brebis	agneaux	Brebis	agneaux
522	927	214 (40.1%)	288 (33.1%)

Tableau6 : prévalence de la *Cryptosporidium* par La taille du troupeau, groupe et niveau de la production.

Prévalence %					
La taille du troupeau (têtes)	ANIMAUX	Les échantillons Positif	GROUPE	agneaux	Brebis
	502	129	25.7	20.09	29.86
100	307	91	29.64	29.85	29.58
>100	195	38	19.48	15.64	31.25

La prévalence est plus élevée chez les agneaux que dans brebis ($P > 0,05$) dans les troupeaux de moins de 100 animaux. Dans celles où il y avait plus de 101 animaux, les brebis avaient une prévalence plus élevée que les agneaux ($p < 0,05$).

PARTIE EXPERIMENTALE

Une prévalence de 34,3% en général a été trouvée, et la prévalence dans les troupeaux avec plus de 100 animaux était significativement plus élevée (40,6%). ALONSO-FRESAN et al.

Dans cette étude, les brebis présentées une plus grande prévalence que les agneaux, ce qui peut être lié à des phénomènes décrits par Ortega Mora (1999).

3- EN TURQUIE :

***L'infection de *Cryptosporidium* dans les agneaux dans Aydin province. (ouest de la Turquie) :**

144 échantillons fécaux ont été obtenus à partir des agneaux diarrhéiques ou non-diarrhéiques âgés de 1 jour à 30 jours sur un élevage de moutons dans la province d'Aydın. Tous les échantillons ont été examinés avec la Heine fuchsine phéniquée méthode en laboratoire.

Tableau 7 : Fréquence de détection de *Cryptosporidium* spp. chez les agneaux

agneau	oocystes				
	n	positive		négative	
		n	%	n	%
diarrhéiques	67	53	79.1	14	20.9
Non diarrhéiques	77	14	18.2	63	81.8
Total	144	67	46.5	77	53.5

Tableau 8 : Relation entre l'âge et oocystes de *Cryptosporidium*

agneaux	Age (jours)					
	nombre	n	<15		>15	
			n	%	n	%
Oocystes positive	67	60	89.6	7	10.4	
Oocystes négative	77	49	63.6	28	36.4	
total	144	109	75.7	35	24.3	

Tableau 9 : fréquence des agneaux diarrhéiques de *Cryptosporidium*

agneaux diarrhéiques avec oocystes <i>Cryptosporidium</i> sp.	Age (jours)				
	n = 53	<15		>15	
		n	%	n	%
	51	96.2	2	3.8	

Les oocystes de *Cryptosporidium* spp. ont été trouvés dans 67 sur 144 agneaux (46,5%). (tableau1)

Le taux d'infection étaient significativement plus élevés chez les agneaux diarrhéique (79,1%, 53 sur 67) que dans les non-diarrhéique agneaux (18,2%, 14 sur 77).

L'analyse statistique a montré que les taux d'infection étaient significativement plus élevée chez les agneaux âgés de 1 à 15 jours (89,6%, 60 sur 67) que dans celles entre les 15-30 jours d'âge (10,4% 7 sur 67).

Les deux diarrhées et de oocystes de *Cryptosporidium* étaient signalés dans 53 agneaux. Diarrhée avec les oocystes de *Cryptosporidium* spp. était plus fréquente chez les agneaux de

PARTIE EXPERIMENTALE

moins de 15 jours d'âge (96,2%, 51 sur 53) que chez ceux âgés entre 15 et 30 jours (3,8%, 2 sur 53)

La diarrhée avec la présence de *Cryptosporidium* spp. Oocystes était plus fréquente chez les agneaux de moins de 15 jours à compter de l'âge (96,2%, 51 sur 53) que chez ceux âgés entre 15 et 30 jours (3,8%, 2 de 53). (Bulent ULUTAS, Huseyin VOYVODA.)

4- EN ESPAGNE :

Une étude épidémiologique a été réalisée pour étudier la prévalence et d'identifier les facteurs associés au risque d'infection de *Cryptosporidium* dans les moutons à Saragosse (nord-est de l'Espagne).

Des échantillons de selles de 583 agneaux âgés de 1 jour à 3 mois et 205 brebis de plus de 1 an ont été recueillis à 89 exploitations agricoles dans les deux régions de la province de Saragosse avec la population le plus élevé des moutons (Saragosse et Ejea de los Caballeros).

Tableau 10 : prévalence de la cryptosporidiose chez des agneaux de différent âge :

	Animaux positifs			
âge	Agneaux (1-21 jours)	Agneaux (8-14 jours)	Agneaux (22-90 jours)	brebis
Taux d'infection %	66.4	76.2	23	7.8

Tableau 11 : fréquence des agneaux diarrhéiques de *Cryptosporidium*

animaux	Agneaux diarrhéiques	Agneaux non diarrhéiques
Taux d'infection %	79.4	22.4

Oocystes de *C. parvum* ont été identifiés en utilisant la technique de Ziehl-Neelsen en 344 agneaux (59%) à partir de 75 fermes (84,4%).

PARTIE EXPERIMENTALE

Agneaux infectés variait de moins de 7 jours à 90 jours d'âge, même si le pourcentage d'animaux excrétion des oocystes a culminé à 8-14 jours d'âge (76,2%).

Les agneaux âgés de 1 à 21 jours (66,4%) : les taux d'infection est de 76,2%.

Les agneaux âgés entre 22 et 90 jours est de 23%.

L'infection de *Cryptosporidium* a également été détectée dans 16 brebis (7,8%) qui excrétés oocystes peu et sans diarrhée.

Les taux d'infection de *Cryptosporidium* étaient significativement plus élevés dans diarrhéique (79,4%) que chez les non-diarrhéique agneaux (22,4%).

Le pourcentage de troupeaux testés positifs était significativement plus élevé dans les fermes avec des agneaux diarrhéiques (91,3%) que chez ceux sans cas de diarrhée néonatale (12,5%). (Causape AC, Quilez J, Sanchez-Acedo C, Del Cacho E, Lopez Bernad F,2002)

5- EN SERBIE :

Une étude était réalisé a fin d'estimer la prévalence de l'infection de *Cryptosporidium* chez les jeunes agneaux, jusqu'à trois mois d'âge. Les agneaux ont été divisés en deux groupes d'âge; jusqu'à 30 jours et 31-90 jours. Un total de 214 animaux a été examiné, dont 64 agneaux jusqu'à 30 jours d'âge, 62 agneaux de 31 à 90 jours.

L'infection a été diagnostiquée à l'aide de trois procédures coprologiques. Flottation sucre Sheather a été employée pour déterminer la concentration d'oocystes. Mise à jour de Ziehl-Neelsen technique et modification Kinyoun technique ont été utilisés comme méthodes de coloration.

Tableau 12 : Infection par *Cryptosporidium* chez les agneaux âgés de moins de 90 jours :

Age (jours)	examinée	positive	
		NO	%
1-30	64	29	54.3
31-90	62	24	38.7
Total (1-90)	126	53	42.1

Tableau 13 : Prévalence de la diarrhée chez les agneaux âgés de moins de 90 jours positifs pour *Cryptosporidium* :

Age (jours)	Positive avec la diarrhée		positif sans diarrhée		totale positif	
	No	%	No	%	No	%
1-30	20	69.0	9	31.0	29	100
31-90	7	29.2	17	70.8	24	100
Total (1-90)	27	50.9	26	49.1	53	100

Les oocystes de *Cryptosporidium* ont été détectés dans 42,1% des agneaux qui ont été examinés. Dont la prévalence est élevée chez les agneaux âgés de moins de 30 jours (45,3), et de (38,7%) chez les agneaux âgés de 31 et 90 jours. (Causape et al. (2002); Noordeen et al. (2001) et Olson et al. (1997).

Parmi les agneaux positifs jusqu'à l'âge de 90 jours 50,9% souffraient de diarrhée.

La diarrhée était plus fréquente chez les jeunes agneaux positifs (69,0%), tandis que dans les agneaux plus âgés de l'infection était souvent asymptomatique (70,8%) . (Kaminjolo et al., 1993).

6- AU MAROC :

Au Maroc une recherche des oocystes du *Cryptosporidium* a été effectuée au Département de Parasitologie et Maladies Parasitaires de l'Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II chez les ovins et les résultats montrés chez les ovins (**156** ovins) sont :

Tableau 14: relation entre l'âge, la diarrhée et les oocystes de *Cryptosporidium* :

	<i>Fèces diarrhéiques</i>		<i>Fèces non diarrhéiques</i>		<i>total</i>	
	NP	NP+	NP	NP+	NP	NP+
<i>Age < 2 semaines</i>	45	20	35	2	80	22
<i>Taux d'infection (%)</i>	-	44.44	-	5.71	-	27.5
<i>Age > 2 semaines</i>	33	0	43	5	76	5

PARTIE EXPERIMENTALE

Taux d'infection (%)	-	0	-	11.62	-	6.57
total	78	20	78	7	156	27
Taux d'infection (%)	-	25.64	-	8.97	-	17.30

N.P : nombre de prélèvements.

N.P+ : nombre de prélèvements positifs

Les agneaux âgés moins de deux semaines : le taux d'infection est de 44.44% dans des fèces diarrhéiques, 5.71% dans des fèces non diarrhéiques donc une prévalence total 27.5%

Les agneaux âgés de plus de deux semaines : 0 % dans des fèces diarrhéique et 11.62% dans des fèces non diarrhéiques et une prévalence totale 6.57%.

Le taux d'infection totale est de 25.64% dans Fèces diarrhéiques et 8.79% dans Fèces non diarrhéiques.

Ces résultats indiquent que chez les ovins, , d'une part, qu'il existe une bonne corrélation entre l'excrétion des oocystes et une diarrhée: 25,64% contre 8,97% chez les ovins, et d'autre part, que les prévalences de la cryptosporidiose-maladie sont plus élevées chez les jeunes que chez les adultes: 44,44% contre 0% chez les ovins. Chez les ovins adultes présentant une diarrhée, aucun cas d'infection n'a été observé.

CONCLUSION

Conclusion :

D'après les données de plusieurs études dans différentes régions du monde sur le taux d'infestation par les cryptosporidies dans les exploitations ovines et les facteurs de risques impliqués dans le développement de cette parasitose, Les animaux les plus jeunes semblent être les plus sensibles à l'infection et les plus susceptibles de développer une maladie tandis que les individus adultes restent la plupart du temps asymptomatiques, ainsi que, la cryptosporidiose a été rapporté chez les ovins dans le monde entier.

En raison de l'importance économique et sanitaire de la cryptosporidiose, le diagnostic de cette parasitose reste un acte important qui doit être mis en disposition dans nos Laboratoires. La connaissance de différents techniques de mise en évidence des oocystes de *Cryptosporidium* dans les matières fécales et même dans d'autres produits tel que l'eau et les aliments devient une nécessité qui permet de diagnostiquer l'infection chez les ruminants et l'homme et de prévenir de la dissémination de ce protozoaire et les sources de transmission.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

REFERENCE:

- ***Abd -El-Wahed, M.M., 1999.** Cryptosporidium infection among sheep In Qalubia Governorate, Egypt.J.Egypt.Soc.Parasitol.29, 113–118
- ***Angus, K. W. et al.** Une épidémie de diarrhée associée à la cryptosporidiose chez les agneaux élevés naturellement. Veterinary Record, c 110, p. 129-130, **1982.**
- ***Angus K.W. ;Hutchinson G. ;Campbell I.; Snodgrass D.R.** Prophylactic effects of anticoccidial drugs in experimental murine cryptosporidiosis.the veterinary record, **1984**, 114. 166-168.
- ***Agnus K.W. cryptosporidiosis in man and animals. Editors:Dubey J.P., Speer C.A. and Fayer R.,** CRC Press Boca Raton, Florida, USA, 1990. 83-103.
- ***Barker I.K.&Carbonell P.L.1974.** *Cryptosporidium agni* sp.n.from lambs,and *Cryptosporidium bovis* sp.n.from a calf, With observations on the oocyst. Parasitology Research, 44(4),289–298
- ***Barış Sari, Mükremin Özkan Arslan, Yunusgicik, Muratkara . Gencay Taşkın Taşçi .2008.** Trop Anim Health Prod(2009) 41:819–826.
- ***Bukhari Z.; Smith H.V.** *Cryptosporidium parvum*: oocyst excretion and viability patterns in experimentally infected lambs. **Epidemiology and infection**, **1997**, 119. 105- 108.
- ***Castro-Hermida, J.A., Gonzales-Losada, Y.A. & Ares-Mazas, E.2002.** Prevalence of and risk factors involved in the spread of neonatal bovine cryptosporidiosis in Galicia (N W Spain). Veterinary parasitology, 106, 1-10 .
- ***Causape, A.C., Quilez, J., Sanchez-Acedo, C., DelCacho, E. Lopez-Bernad F.2002.** Prevalence and analysis of potential risk factors for *Cryptosporidium parvum* infection in lambs in Zaragoza (North eastern Spain). Veterinary Parasitology, 104, 287–298.
- ***Chartier C.** Cryptosporidiose des ruminants: actualités en matière d'épidémiologie, de diagnostic et de contrôle. Protozooses bovines : actualités. Société Française de Buatrie, Annecy, 3 Octobre 1996. 19-31.
- ***Chartier C. ; Mallereau M.P. ; Lenfant D.** Efficacité du lactate d'halofuginone dans la prévention de la cryptosporidiose chez le chevreau nouveau-né. Revue de médecine vétérinaire. 1999.150(4). 341-348.
- ***Chartier C.** la cryptosporidiose du chevreau. Réussir la chèvre, 2000, n°236. 31-32.
- ***Chartier C. 2003.** Cryptosporidiose des ruminants. Maladie infectieuse et parasitaires du bétail. Edition tec et doc, edition, Medicate Internationales.1559-1568.

- ***De Graaf D.C., Vanopdenbosch, E., Ortega-Mora, L.M., Abbasi, H. Peeters J.E. 1999.** A review of the importance of cryptosporidiosis in farm animals. *International Journal for Parasitology*, 29, 1269–1287.
- ***Fayer R.; Gasbarre L.; Pasquali P. ; Canals A. ; Almeria S. ; Zarlenga D.** *Cryptosporidium parvum* infections in bovine neonates : dynamic clinical, parasitic and immunologic patterns. *International Journal for Parasitology*, 1998, 28. 49-56.
- ***Majewska, A.C., Werner, A., Sulima, P. & Luty, T. 2000.** Prevalence of *Cryptosporidium* in sheep and goats bred on five farms in west central region of Poland. *Veterinary Parasitology*, 89, 269–275.
- ***Manuel terrestre de l'Office International des épizooties. 2005.** Cryptosporidiose : techniques de diagnostic. 1192-1205.
- ***Morgan, U. M. et al.** Variation de *Cryptosporidium*: vers une révision taxonomique du genre. *International Journal for Parasitology*, verset 29, p. 1733-1751, 1998.
- ***Morin, R. 2002.** **Cryptosporidiose chez les ruminants.** [www.biblio.vet-nantes.fr / theses /2002](http://www.biblio.vet-nantes.fr/theses/2002).
- ***Naciri M.; Lacroix S. ; F.** La cryptosporidiose des ruminants(1ère partie). *L'action vétérinaire*, 2000, n°1536. 17-23.
- ***Naciri M.; Yvore P.** Efficacité du lactate d'halofuginone dans le traitement de la cryptosporidiose des bovins. . *Recueil de médecine vétérinaire*, 1983, 159(3). 221-226.
- ***Naciri M.; Yvore P.** Efficacité du lactate d'halofuginone dans le traitement de la cryptosporidiose chez l'agneau. *Recueil de médecine vétérinaire*, 1989, 165(10). 823-826.
- ***Naciri M.** la cryptosporidiose. Importance de la contamination de l'eau. *INRA Productions animales*, 1992, 5 (5). 319-327.
- ***O' Donoghue P. J.** *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis in man and animals. *International Journal for Parasitology*, 1995, 25(2). 139-195.
- ***Olson, M. E. et al.** Giardia et *Cryptosporidium* dans les animaux de la ferme au Canada. *Parasitologie vétérinaire*, verset 68, p. 375-381, 1997.
- ***Ortega-Mora L.M.; Wright S.E.** Age related resistance in ovine Cryptosporidiosis: Patterns and humoral immune response. *Infection and immunity*, 1994, 62(11). 5003-5009.
- ***Ortega-Mora, L.M., Requejo-Fernandez, J.A., Pilar-Izquierdo, M., Pereira-Buenoj 1999.** Role of adult sheep in transmission of infection by *Cryptosporidium parvum* to

- lambs: confirmation of periparturient rise. *International Journal for Parasitology*, 1999, 29, 1261-1268
- ***Ramirez, N.E., Ward, L.A., Sreevatsan S.2004.**A review of the biology and epidemiology of cryptosporidiosis in humans and animals. *Microbes and Infection*, 6, 773–785.
- ***Ryan,U.M.,Bath,C.,Robertson,I.,Read,C.,Elliot,A.,McInnes,L., Traub, R., Besier, B., 2005.**Sheep may not be an important zoonotic reservoir for *Cryptosporidium* and *Giardia* parasites. *Appl.Environ.Microbiol.*71,4992–4997.
- ***Santin M., Trout J.M. Fayer R.2007.**Prevalence and molecular characterization of *Cryptosporidium* and *Giardia* species and genotypes in sheep in Maryland. *Veterinary Parasitology*, 146,17–24doi:10.1016/j.vetpar.2007.01.010
- ***Simpson V. R.** Uraemia in cases of cryptosporidiosis. *The veterinary Record*. 1994, September 24. 316.
- ***Smith, H.V., S.M.Caccio,N. Cook, R.A.B. Nichols, A. Tait.2007.** *Cryptosporidium* and *Giardia* as foodborne zoonoses. *Vet. Parasito.*149:29-49.
- ***Tee, G.H. A. H. Moody, A. Hunt-Cook, P.L. Chiodin. 1993.** A novel assay for detecting soluble antigen for *Cryptosporidium parvum* using particle agglutination technology. *Serodiagn. Immunother. Infect. Disease*. 149: 29-49.
- ***Thompson R.C.A. Olson M.E. Zhu G. Enomoto S., Abrahamsen M.S & Hijjawi,N.S. 2005.** *Cryptosporidium and Cryptosporidiosis*. *Advances in Parasitology*, 59, 77–158.
- ***Tyzzar E.E.** A sporozoan found in the peptic glands of the common mouse. *Proceeding of the society of experimental Biology and Medicine*, 1907, 5,.12-13.
- ***Tyzzar E.E.** An extracellular coccidium, *Cryptosporidium muris* of the gastric glands of the common mouse. *Journal of Medical Research*, 1910, 23.487-509.
- ***Tyzzar E.E. Cryptosporidium parvum** (sp.nov.), a Coccidium found in the small intestine of the common mouse. *Arch. Protistenkd.*, 1912, 26. 394- 412.
- ***Tzipori, S., Angus, K. W., Campbell, I. & Clerihew, L. W. (1981)** Diarrhea due to *Cryptosporidium* infection in artificially reared lambs. *Journal of Clinical Microbiology* 14, 100- 105
- ***Xiao L.; Herd, R. P.; Rings, D. M.** Diagnosis of *Cryptosporidium* on a sheep farm with neonatal diarrhea by immunofluorescence assays. ***Veterinary Parasitology***, v. 47, p. 17-23, 1993
- ***Xiao, L., Herd R.P.& McClure,K.E.1994.** Periparturient rise in the excretion of *Giardia* sp. cysts and *Cryptosporidium parvum* oocysts as a source of infection for lambs. *Journal of Parasitology*, 80, 55–59.