REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ETPOPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHESCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES



Mémoire De Fin d'Etudes

Présenté pour obtenir le diplôme de Master

En Biologie

Spécialité :Microbiologie appliquée

Thème:

La cryptosporidiose des animaux

Présenté par:

CHABOUNIHayat **ALLOUCHEAmina**

jury:

Président: Khames.M	**MCA**	**Univ Yahia Farés de Médéa**
Encadreur: Bennadji M A	**MAA**	**Univ Yahia Farés de Médéa**
Examinateur: Chami.B	**MAA**	**Univ Yahia Farés de Médéa**

2020/2021

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail:

Nous tenons à remercier avant tout **Allah** tout-puissant qui nous a aidés à réaliser ce modeste travail.

Tout au long de la réalisation de ce mémoire, nous avons été dirigé, suivies et orienté par **Mr BENNADJI Mohammed Amine**, notre promoteur qui est a l'origine de ce sujet, nous lui présentons nos sincères reconnaissances, nous le remercions pour la confiance qu'elle nous a témoignée, et la patience qu'il nous a prodiguée dans la réalisation de ce sujet.

Nous tenons à remercier tous les membres du jury pour tous les critiques, les conseils et les orientations pour le succès de notre modeste travail.

Bien sûr, sans oublier tous nos collègues de la faculté des sciences sur le soutien moral.

DEDICACE

Je m'adresse en premier lieu mon reconnaissance à notre DIEU tout puissant, de me donner la santé et la volante d'entamer et de terminer ce mémoire

Je dédie ce modeste travail à ma chère et douce mère "Fatima", à mon cher père "Lakrout ", pour les quels je prie Dieu Tout Puissant afin qu'il leurs accorde santé et longue vie, pour leur amour, soutien et assistance dans tous les projets de ma vie.

A mes chers grands-mères et grands-pères:

Said Selaimen Khoukha et Messeouda (alah yarhamha)

A mes sœurs*:*

Nacira khoukha Souad Farida

***et* leurs maris:**

les deux Abdelkarim Ayache Rabie

leurs enfants:

Hassan Dallal Ali Abdelrahman Meriem Imen Iyad Taqoi Wail Qossai

A mes frères:

Fouzi Walid Abdelnour

A mes tantes, oncles et leurs fils

A la plus chère de mon cœur:

Amina (binôme) Nadia Fatiha Chahrazed

A toute ma famille et toute mes amis

CHABOUNI H

DEDICACE

Je m'adresse en premier lieu mon reconnaissance à notre DIEU tout puissant, de me donner la santé et la volante d'entamer et de terminer ce mémoire

Je dédie ce modeste travail à ma chère et douce mère"lyakout", à mon cher père"Rabeh", pour lesquels je prie Dieu Tout Puissant afin q;u'il leurs accorde santé et longue vie, pour leur amour, soutien et assistance dans tous les projets de ma vie.

A mon cher frère

" Toufik"

A mon fiançé

"Rida"

A mes sœurs

Samia Zahra Fatima Nacira Farida

A la plus chère de mon cœur

Hayat(binôme) Lamia Karima Nassima Cherifa Hadjira

A toute ma famille et toute mes amis

ALLOUCHE A

Résumé

La *cryptosporidiose* est une maladie causée par un parasite protozoaire du genre*Cryptosporidium* qui affecte de très nombreuses espèces du règne animal dont l'homme. Elle estgénéralement responsable d'une gastro-entérite parfois fatale chez les individus immaturesimmunologiquement ou immunodéprimés. Autrefois considéré comme opportuniste,*Cryptosporidium* est aujourd'hui considéré comme un agent pathogène majeur dans les élevages en raison de son incidence, de son importance économique et de son pouvoir zoonotique.

L'infection à *Cryptosporidium* se transmet par déférent voie avec un risque de transmission plus élevés ,il ya plusieurs technique pour le diagnostique de se parasite comme latechnique Ritchie pour l'enrichissement suivie de la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée.

Depuis les années 1980, de nombreux efforts pour développer des traitements efficaces contre la *Cryptosporidiose* ont été faits, avec des résultats limités. Les principales difficultés rencontrées reposent sur la position particulière du parasite dans la cellule-hôte qui le protège de l'action de nombreux composés chimiques mais également sur l'âge d'infestation des jeunes animaux qui rend inefficace une vaccination, même précoce, de ces derniers.

Abstract

Cryptosporidiosis is a disease caused by a protozoan parasite *Cryptosporidium* which affects many animal species including humans. Usually it is responsible for a gastroenteritis occasionally lethal in immature or immunodepressed individuals. It has been considered as an opportunistic agent for years but nowadays it appears to be a major pathogen in livestock due to its incidence, economic losses and zoonotic potential.

Cryptosporidium infection is transmitted by the vas deferens with a higher risk of transmission ,there are several techniques for the diagnosis of this parasite as Ritchie technique for enrichment followed by modified Ziehl-Neelsen staining.

Since the 1980s, many efforts to develop efficient treatments against cryptosporidiosis have been made with limited results. The main difficulties appear to be the parasite specific location in host cells which protects it from chemical compounds and the age susceptibility of infection so even an early vaccination is inefficient in young animals.

الملخص

الكريبتوسبوريديوس هو مرض يسببه طفيلي من جنس خفية الأبواغ التي تؤثر على العديد من الأنواع الحيوانية بما في ذلك البشر. وهي مسؤولة عموما عن التهاب المعدة والأمعاء,وتكون قاتلة في بعض الأحيان ,عند الأفراد الذين يعانون من نقص المناعة أو غير مكتملي النمو المناعي,وقد أصبح الكريبتوسبوريديوساليوم مرض رئيسي في نشاط تربية الحيوانات بسبب تأثيره,أهميته الاقتصادية,وقوته كداء يصيب الحيوانات، وقد تم الإبلاغ عن العديد من الأوبئة في جميع أنحاء العالم من خلال استهلاك الماء أو الطعام الملوث.

تنتقل عدوى خفية الأبواغ بطرق مختلفة مع خطر عدوى مرتفع جدا ,أما عن التشخيص ,فهناك العديد من التقنيات لتشخيص هذا الطفيل ,كتقنية ريتشي لإثراء التخصيب تليها زيل-نيلسن معدلة .

منذ 1980،بذلت العديد من الجهود لتطوير علاجات فعالة ضد الكريبتوسبوريديوم ، مع نتائج محدودة. تستند الصعوبات الرئيسية على موقف معين من الطفيليات في الخلية المضيفة التيتعمل على حمايته من المركبات الكيميائية الكثيرة ,و أيضا العدوى التي تصيب الحيوانات في سن صغيرة مما يجعل التطعيم غير فعال حتى في وقت سابق.

Sommaire

REMERCIEMENTS

DEDICACE

Résumé

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviation

Introduction: 1

CHAPITRE1: Généralité sur la *Cryptosporidiose* 2

I.Définition: 3

II.HISTORIQUE 3

CHAPITRE 2 : Etude de *Cryptosporidiumspp* 5

III. Taxonomie 7

III.1. Agent pathogène 7

III.1.1.Epidémiologie 7

III.1.2. Morphologie et biologie 10

III.1.3. Cycle biologique 11

CHAPITRE 3 : la *cryptosporidiose* chez l'homme 17

IV. la *cryptosporidiose* chez l'homme 18

IV.1. Modes de contamination 18

IV.2.1. Transmission directe 18

IV.2.2. Transmission indirecte 19

IV.2.3. Autres modalités 20

IV.3. Pathogénie 20

IV.4. Réservoir de parasite 20

IV.5. Facteurs favorisants 21

IV.6. Répartition géographique et prévalence 22
V. ASPECTS CLINIQUES 22
V.1. Sujets immunocompétents 23
V.2. Sujets immunodéprimés 23
V.2.1. *Cryptosporidiose* digestive 23
V.2.2. *Cryptosporidiose* pulmonaire 24
CHAPITRE 4 : la *cryptosporidiose* chez les animaux 25
(les bovins et les caprins) 25
VI. Epidémiologie : 26
VI.1. Epidémiologie descriptive : 26
VI.1.1. Répartition géographique : 26
VI.1.2. La prévalence de la *cryptosporidiose*: 26
VI.1.2.1.la *cryptosporidiose* chez les bovins……..……..……..……27
VI.1.2.2. la *cryptosporidiose* Chez les caprins……..……27
VI.1.3.Espèces cibles : 28
VI.2. Epidémiologie analytique : 28
VI.2.1. Source de parasite : 28
VI.2.2. Mode de contamination : 29
VI.2.3. Dose infectante : 29
VI.2.4. Facteurs favorisants de la contamination : 30
VI.2.5. Spécificité de l'hôte : 30
VI.2.6. Réservoirs de parasites: 31
CHAPITRE 5 : la *cryptosporidiose* et l'immunité 32
VII. la *cryptosporidiose* et l'immunité 33
VII .1.Immunité innée 34
VII .2.Immunité adaptative 37
VII.2.1 Immunité à médiation cellulaire 37
VII.2.2 Immunité à médiation humorale 38
CHAPITRE 6 : Diagnostic et traitement de la *cryptosporidiose* 41
VIII. Diagnostic biologique de *CRYPTOSPORIDIOSE* 42
VIII.1.Diagnostic parasitologique 42

VIII.1. 1.Prélèvements 42
VIII.1.2. Techniques 42
VIII.2. Diagnostic immunologique 49
VIII.2. 1.Recherche des antigens 49
VIII.2. 2.Recherche des anticorps 50
VIII.3. Diagnostic anatomopathologique: 53
VIII.4. Diagnostic moléculaire: 54
VIII.4.1. Extraction de l'ADN de *Cryptosporidiumspp* 54
VIII.4. 2.Les réactions d'amplification en chaine par polymérase (PCR): 55
VIII.4.3. Identification des espèces de *Cryptosporidiumspp* : 57
VIII.4.3. 4.PCR gp60 61
VIII.4.4. Identification des sous-types et étude de la diversité génétique de *Cryptosporidiumspp*: 63
VIII.5.Diagnostic histologique 64
IX.TRAITEMENT 65
IX.1. Traitement curatif : 65
IX.1.1.Chez les patients immunodéprimés: 65
IX.1.2.Chez les patients immuncompétents: 68
IX. 2. Traitement symptomatique : 69
X. Prophylaxie : 69
X.1.Mesures collectives : 70
X.2.Mesures individuelles : 70
XI. Désinfection 71
Conclusion 72
Référence

Liste des tableaux:

Tableau 1	taxonomie de *cryptosporidiumsp*	07
Tableau 2	Espèces du genre *Cryptosporidium* en fonction de l'hôte et du site anatomique de développement.	09

Liste des figures:

Figure 01	image microscopique de *cryptosporidioseparvum.*	*10*
Figure 02	cycle de vie de *cryptosporidium*.	*11*
Figure 03	Différents stades évolutifs de *Cryptosporidiumsp*	*15*
Figure 04	Ultrastructure du mérozoïte de *C. parvum*	*16*
Figure 05	Ultra structure d'un macro gamonte de *C. parvum*	*16*
Figure 06	Oocyste de C. parvum (A-Ultrastructure B-Schéma de l'oocyste)	*17*
Figure 07	Représentation schématique et simplifiée de la voie de signalisation cellulaire qui active le facteur NF.kB lors de l'infection par *cryptosporidiumspp*	*36*
Figure 08	Schéma simplifié représentant le résultat d'une infection entre des cellules NK et des cellule cibles saines ou malades.	*36*
Figure 09	Oocystes de *Cryptosporidiumsp*.à l'examen direct (Gx100)	*43*
Figure1 0	Identification d'oocystes de *Cryptosporidiumsp*.l'examen parasitologique des selles (x100) coloration de Ziehl Neelsen modifiée	*44*
Figure 11	Identification des sporocystes de *Cryptosporidium* sp. à l'examen parasitologique des selles (x100) : coloration par la technique de Heine	*45*

Figure 12	Identification des sporozoïtes de *Cryptosporidium*sp. à l'examen parasitologique des selles (x100) : coloration au Giemsa	*46*
Figure 13	Identification des sporocystes de *Cryptosporidiumsp.*à l'examen parasitologique des selles (x100) : coloration par le lugol à 2%	*47*
Figure 14	Identification des sporocystes de *Cryptosporidiumsp*. à l'examen parasitologique des selles (x100) : coloration à la safranine	*49*
Figure 15	Identification d'oocystes de *Cryptosporidiumparvum* (flèches) à l'examen anatomopathologique d'une muqueuse duodénale parasitée: coloration à l'hématoxyline-éosine (x400)	*54*
Figure 16	Coupe histologique colorée à l'Hémalin-Eosine-Safran d'un intestin parasité par *Cryptosporidiumparvum*.	*65*

Liste des abréviation :

C : *Cryptosporidium*.

DI : Dose Infectieus.

IgA s : Immunoglobuline A sécrétoires.

IgA : Immunoglobuline de classe A.

IgG : Immunoglobuline de classe G.

IgM : Immunoglobuline de classe M.

TLRs : Toll like receptors.

FAE : Follicle associée à l' épthelium.

MC : Micrfold cells.

CMH : Complexe d'histocompatibilité Humain.

Th : T helper .

IFNγ : InterFeroN γ.

IL : Interleukine .

CD4 : Cluster of Differentiation 4.

CD8 : Cluster of Differentiation 8.

ELISA : Enzym Linked Immuno Sorbent Assay.

K : Vitamine K.

Kg : Kilogramme.

SIDA : Syndrome d'Immuno Déficit Acquis**.**

DI 5 : La Dose Infectieuse 50 FAE Follicle Associated Epithelium.

M : Microfold cells.

NK : NaturalKiller.

TLRs : Toll like receptors*.*

PAMPs : Pathogen-associated molecular patterns*.*

PCR : Ploymerase chain reaction .

VIH : Virus d'ImmunodéficienceHumaine *.*

Introduction:

*Cryptosporidiumspp.*est un protozoaire parasite du tube digestif de nombreux vertébrésy compris l'homme et les ruminants domestiques. Son cycle comprend une phase parasitaire au cours de laquelle des multiplications intenses conduisent l'émission dans les matières fécales des éléments infectieux, les oocystes.

La transmission se fait par voie fécale-orale par contact direct entre hôtes ou de façon indirecte via l'eau ou les aliments souillés.

La maladie qui résulte de l'infection, appelée *cryptosporidiose*, s'exprime par une atteinte digestive (entérite) aussi bien chez l'homme que chez l'animal.

Cette maladie est ubiquitaire et revêt une importance en santé publique et en santé animale, ces deux aspects étant liés par l'existence d'espèces zoonotiques. L'espèce zoonotique prépondérante est *Cryptosporidiumparvum* et les ruminants nouveaux-nés sont considérés comme la source la plusimportante d'isolats zoonotiques de *C.parvum*

Le présent travail s'est tracé comme objectif général d'apporter une contribution bibliographique sur la c*ryptosporidiose*notamment chez les bovins et les caprins.

CHAPITRE1: Généralité sur la *Cryptosporidiose*

I.Définition:

La *cryptosporidiose* est une pathologie grave qui touche l'intestin de nombreux animaux tels que les caprins et les bovins. Elle entraine la survenue d'un diarrhées importantes et affaiblissement généralisé qui empêchent l'animal de rester debout. Sans traitement adapté, la mort est inéluctable. Cette infection est occasionnée par *Cryptosporidiumhominis* et *Cryptosporidiumparvum*, deux parasites protozoaires [126].

II.HISTORIQUE

En 1907, Tyzzer a décrit pour la première fois le genre *Cryptosporidium* après une longue observation de ce protozoaire parasite dans les glandes gastriques d'une souris de laboratoire (Mus musculus). [1]

Trois ans plus tard, Tyzzer décrivit aussi des stades sexués et asexués chez le parasite, ainsi qu'un attachement aux cellules épithéliales gastriques de l'hôte par le biais d'une organelle spécialisée. Il détailla alors les caractéristiques permettant d'établir un nouveau genre de sporozoaires apparenté aux coccidies : *Cryptosporidium*. Tyzzer proposa la création d'un nouveau genre nommé *Cryptosporidium* afin de classer *C.muris*. [2]

En 1912, il décrit, toujours chez la souris, l'espèce *C.parvum*. [4]

En 1925, Triffitt MJ décrit *C.crotali* chez les serpents à sonnette (crotalus confluens). [5]

En 1955, Slavin D décrit *C.meleagridis* chez le dindon (meleagris gallopavo) pour la première fois, l'association entre le parasite et des manifestations clinique est établie. [6]

De 1961 à 1986, dix-neuf autres espèces de *Cryptosporidium* ont été décrites chez des reptiles, des poissons, des oiseaux et des mammifères. (12)

Les premiers cas humains ont été rapportés en 1976, un cas chez une personne immunocompétent et un cas chez un patient immunodéprimé. (10,32) ce n'est qu'après 1981, avec l'explosion du sida, que *Cryptosporidium*fut reconnu comme agent responsable de diarrhée chez l'homme. (45)

En 1980, Bird et Smith ont étudié sept cas de *cryptosporidiose*, dont six concernaient des patients immunodéprimés, et ont conclu << quand les systèmes immunitaires fonctionnent correctement et qu'il n'y a aucun autre désordre gastro-intestinal, *Cryptosporidium* ne semble pas entre un problème, et à ce titre, ce parasite peut être considéré comme parasite pathogène opportuniste>>. (14)

Mais en 2008, il a été montré que cette affirmation n'était que partiellement vraie; bien que les individus immunologiquement compromis deviennent chroniquement et souvent fatalement malades, des individus immunologiquement compétents peuvent aussi développer fréquemment une gastroentérite aigue à cause du parasite. (106)

La majorité des épidémies de *cryptosporidiose* recensées ont une origine hydrique. De nombreuses épidémies ont été rapportées entre 1984 et1999, principalement en Amérique du Nord, au Royaume-Uni et au japon, la plus grave étant celle déclarée en 1993 à milwauke (Etats-Unis d'Amérique), Elle aurait touché plus de 400 000 personnes ayant bu de l'eau du robinet contaminée. (46)

En 2011, pour les agneaux les premiers travaux sur la *cryptosporidiose* en Algérie se fait par Dr Hicham DAHMANI et al, dans la région de ksar el boukhari.

Depuis l'émergence de *Cryptosporidium* lié à la pandémie de sida, suite à l'épidémie de Milwaukee , et sous la forte impulsion des industries de l'eau , les études se multiplièrent afin de mieux comprendre la biologie du parasite , de

développer des méthodes de détection , de définir une stratégie de prévention , et de mettre au point un traitement efficace. (97)

CHAPITRE 2 : Etude de *Cryptosporidiumspp*

III. Taxonomie:

III.1. Agent pathogène:

III.1.1.Epidémiologie:

La *cryptosporidiose* est une anthropozoonose cosmopolite causée par une coccidie du genre *Cryptosporidium*.

Le genre *Cryptosporidium* est un parasite unicellulaire (protozoaire) appartenant au règne des protistes, au phylum des *Eucoccocidiida*, au sousordre des *Eimeriina* et à la famille des *Cryptosporidiidae*. (102)

Environ vingt espèces du genre *Cryptosporidium* ont été décrites, mais seulement onze sont généralement reconnues (Tableau I).

C. hominis (antérieurement connu comme *C.parvum* de type 1) est trouvé principalement chez l'homme. *C. parvum* constitue la principale espèce, avec huit génotypes identifiés à ce jour, chez de nombreux mammifères domestiques et sauvages, et qui est considéré le principal agent de la *cryptosporidiose* humaine, bien que des cas d'infections *à C. baileyi*(33), à *C. meleagridis* et à *C. felis* aient été rapportés (74).

Position taxonomique:

Tableau 01: taxonomie de *cryptosporidiumsp*

classification	**nom**	**caractéristique**
Règne	*protiste*	_ Eucaryote unicellulaire
Phylum	*Apicomplexa*	_Présence d'un complexe apical (intervenant dans la pénétration du

		parasite). _ Parasite intracellulaire obligatoire
Classe	*Sporozoasida*	_Multiplication asexée et reproduction sexée. _Formation des oocystes
Sous_classe	*Coccodiasina*	_Cycle de développement comprenant : Des stade schizogonie ,gamatogonie . _Gamonte de petite taille
Ordre	*Eucoccidiorida*	Mérogonie toujours présente.
Sous_ordre	*Eimeriorina*	_Développement indépendants des micro et macrogamétes Zygote non mobile .
Famile	*Cryptosporidiidae*	_Quatre sporozoites nus (sans sporocystes contrairement aux autre eimeriidae) dans chaque oocycte . _Stade endogène de développement comportant une organelle de d'attachement . _Cycle homoxéne (contrairement au sarcocystidae qui nécessite un hote intermédiaire.

Tableau 2 : Espèces du genre *Cryptosporidium* en fonction de l'hôte et du site anatomique de développement

Espèces	Hôtes / groupes d'hôtes préférentiels	Localisation chez l'hôte
C. hominis	Humains	Intestin
C. parvum	Humains et autres mammifères	Intestin
C. muris	Rongeur	Estomac
C. andersoni	Bovins	Estomac
C. wrairi	Cobaye	Intestin
C. felis	Chat	Intestin
C. meleagridis	Oiseaux	Intestin
C. baileyi	Oiseaux	Bourse de Fabricius-cloaquevoies aériennes
C. serpentis	Serpents	Estomac
C. saurophilum	Lézard	Muqueuse intestinale et cloacale
C. nasorum	Poissons	Estomac / intestin

III.1.2. Morphologie et biologie:

Un parasite a une forme sphérique à elliptique, sa taille varie de 2 à 6 µm de diamètre, il est donc relativement petit en comparaison aux autres coccidies [(51)]. Sa position occupée dans la cellule épithéliale est très particulière, en zone apicale, jamais en profondeur.

Les stades du cycle intra-cellulaire apparaissent en coupe histologique sous forme de petits corps basophiles donnant à la bordure en brosse un aspect granuleux.

Le stade exogène est représenté par les oocystes qui contiennent 4 sporozoïtes nus c'est-à-dire non contenus dans les sporocystes.

Leur forme est ovoïde à elliptique. Les sporozoïtes sont agencés autour d'un corps résiduel mesurant 1 µm de diamètre et contenant de nombreux petits granules.

Pour *C. parvum*, la taille des oocystes varie de 4,5 à 5,4 µm en longueur de 4,2 à 5 µm en largeur avec un indice de taille (rapport longueur/largeur) variant de 1 à 1,3. par exemple, *C. muris* est plus grand avec une taille variant de 8 à 9,2 µm en longueur à 5,8 µm en largeur[(62)] (**Figure 1**).

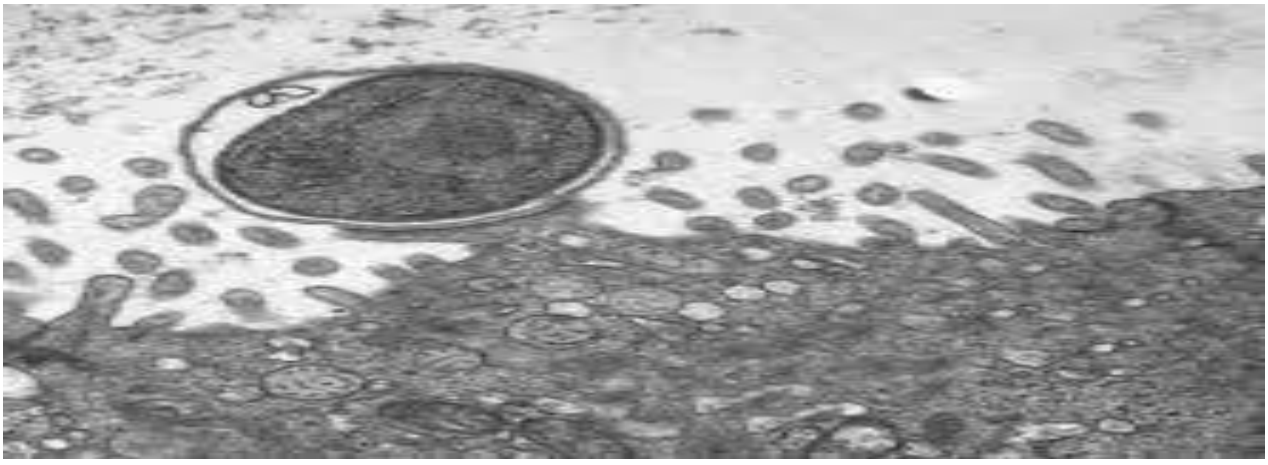


Figure 1:image microscopique de *cryptosporidiose parvum*[(62)].

III.1.3. Cycle biologique:

Le cycle biologique de *C. parvum*. peut être décrit contrairement à d'autres coccidies intracellulaires, *C. parvum* est situé dans la bordure en brosse des entérocytes. Le cycle se déroule à la surface de l'épithélium digestif et plus rarement au niveau respiratoire des sujets atteints. Le cycle évolutif de *C. parvum* est monoxène. Il présente trois phases : la première phase dite asexuée ou schizogonique, la deuxième sexuée et la dernière appelée sporogonique (Figure 2).

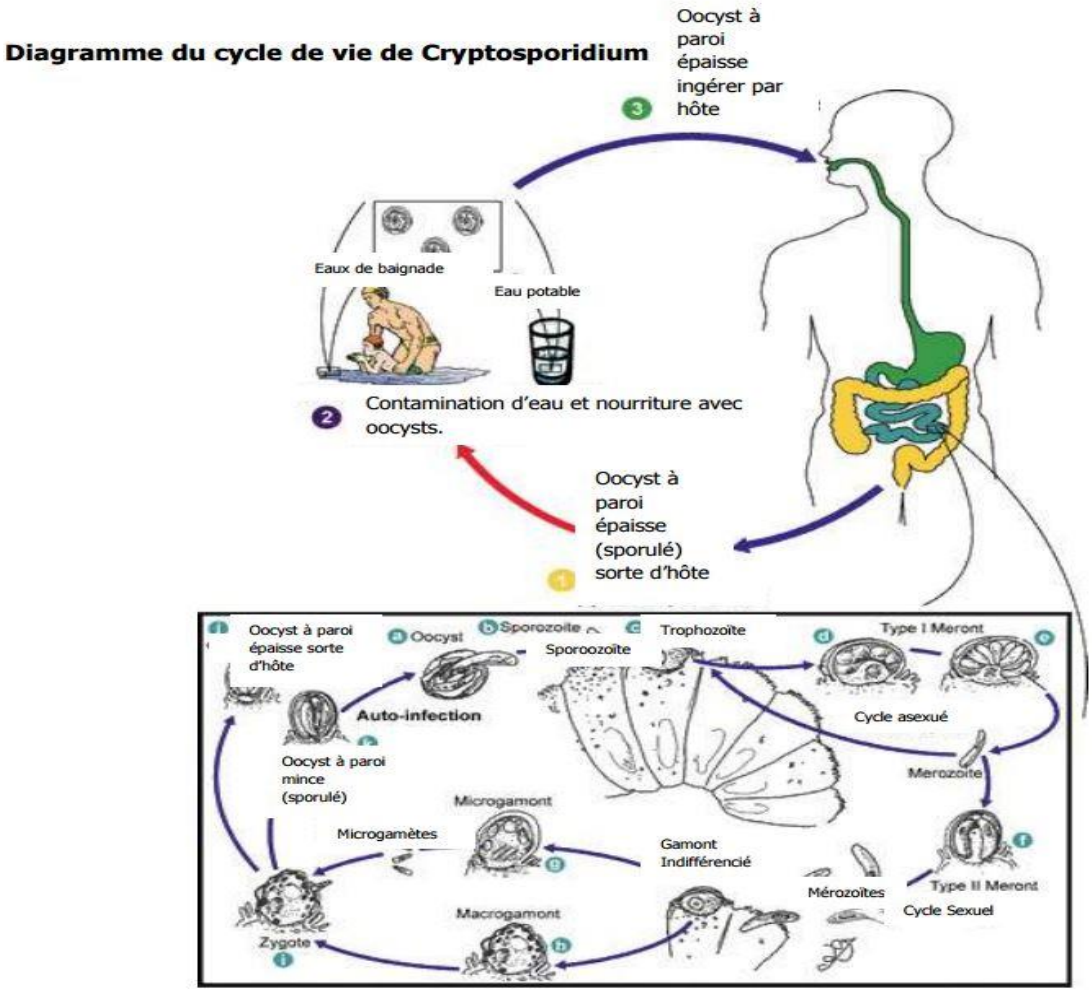


figure 2: cycle de vie de *cryptosporidium*[53].

La contamination de l'homme est survenue lors de l'ingestion d'oocystes mûrs contenant quatre sporozoïtes qui se trouve dans l'eau de boisson ou des aliments souillés (Figure 2).

L'exkystation de ces oocystes, qui est probablement due à la sécrétion par le parasite de diverses protéases, permet la libération dans la lumière intestinale des sporozoïtes infectieux.

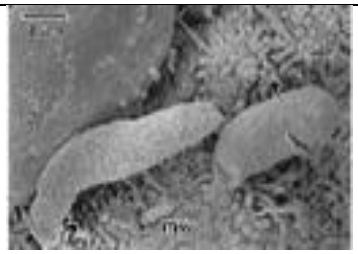
L'envahissement de la surface microvillosités des entérocytes et s'invaginent dans la membrane apicale par les sporozoïtes suivi par la disparition de la double membrane du parasite qui permet un contact direct entre le cytoplasme de la cellule hôte et le parasite (Figure 3).

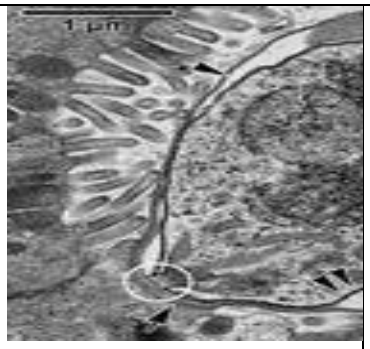
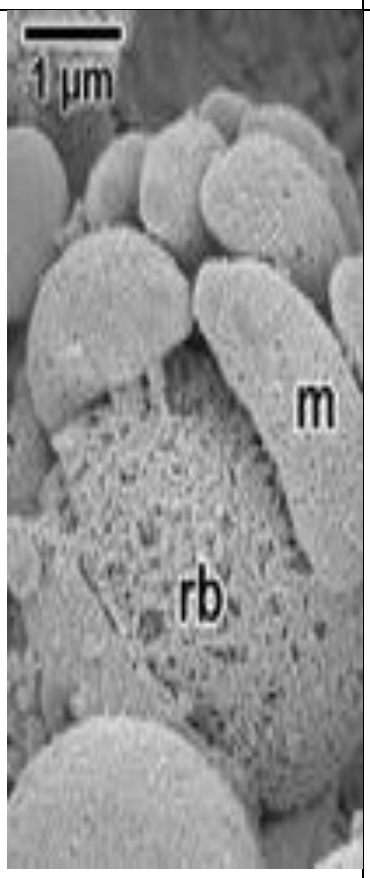
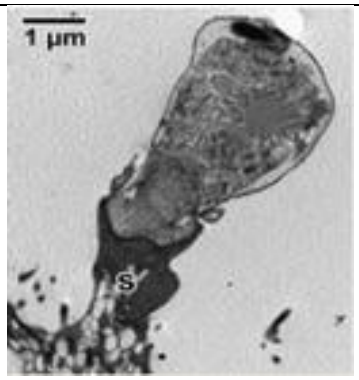
Au troisième jour de la contamination, La schizogonie ou phase de multiplication se commence. Elle comprend alors deux générations schizogoniques qui aboutissent à des schizontes matures contenant huit mérozoïtes (type I), puis quatre mérozoïtes (type 2). Libérés dans la lumière intestinale, les mérozoïtes (Figure 4) envahissent à leur tour les entérocytes selon le même mode que les sporozoïtes

L'homme s'auto infeste d'une part, par recyclage des mérozoïtes(Figure 4) de première génération, et d'autre part en raison d'une population d'oocystes fragiles qui libèrent leurs sporozoïtes in situ dans la lumière intestinale parasitée. Cette autoinfestation joue probablement un rôle dans la ténacité de la *cryptosporidiose* des patients immunodéprimés.

Les mérozoïtes de type 2 ou de seconde génération évoluent en stades sexués : macrogamontes (Figure 5) et microgamontes(Figure 6). Les macrogamontes contiennent de nombreux gamètes uninuclées ; les microgamontes contiennent 16 gamètes mâles non flagellés ; la fécondation des macrogamontes aboutit à la formation du zygote. Durant la phase sporogonique, le zygote évolue en oocyste ou se différencie en quatre sporozoïtes. Il se produit

une sporulation de l'oocyste. Les oocystes sporulés (Figure 7) sont immédiatement infestants et sont de deux types : les uns à paroi simple ou fine provoquant des auto-infestations, et les autres à paroi épaisse ou double éliminés avec les selles dans le milieu extérieur assurant la dissémination du parasite. La durée du cycle est d'environ 48 heures à 10 ou 14 jours selon l'hôte. L'incubation chez l'homme serait de 5 à 21 jours [78,56]

Formes Evolutives	Images	Description
Oocystes	 o: oocyste ps:vacuole parasitophore fo:organelle nourricier	1. Forme sphérique à ovoïde. 2. La taille de l'oocyste varie entre 2 et 6 µm de diamètre, selon l'espèce. 3. Ils contiennent 4 sporozoïtes vermiformes nus c'est à dire non contenus dans des sporocystes. 4. sa paroi est composée de deux couches, interne et externe, bien distinctes. 5. A l'un de ses pôles, se situe une fente qui s'étend sur 1/3 à 1/2 de leur circonférence par laquelle sont libérés les sporozoïtes.
Sporozoïte et merozoïte	 mv : microvillosités	1. Ils sont élancés, virguliformes. 2. Formes libres et mobiles. 3. Présence d'un complexe apical.

Trophozoïte		1. Ils sont arrondis ou ovalaires en position intracellulaire ; 2 à 2,5 µm de diamètre.
Méronte	 m : merozoïtes rb :corps résiduel	1. Méronte de type I contenant six à huit mérozoïtes. 2. La membrane cellulaire de la cellule hôte entourant le méronte se lyse et les mérozoïtes deviennent extracellulaires, capables d'infecter d'autres cellules hôtes pour produire de nouveaux mérontes type I ou peuvent évoluer vers des mérontes type II à quatre mérozoïtes.
Microgamont-e		1.Ils ressemblent aux mérontes, mais contiennent des noyaux plus petits. 2. Des divisions nucléaires successives dans le microgamontes forment de microgamètes. 3. Ils ont une forme en tige avec

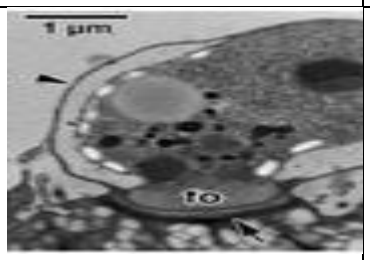
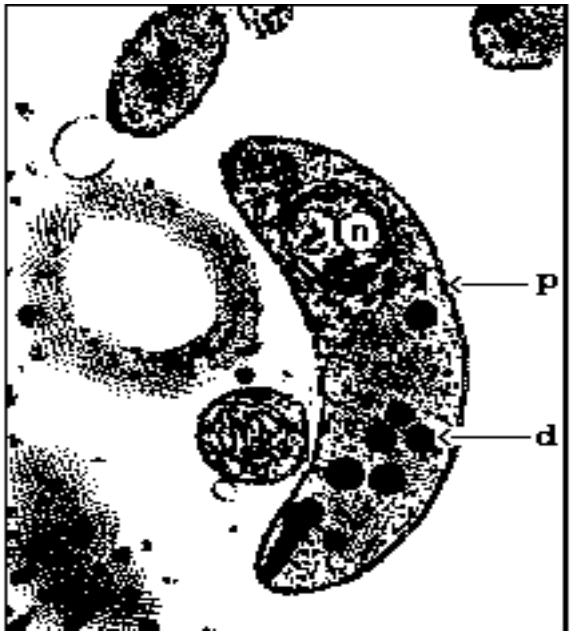
		une extrémité antérieure aplatie,4 à 5µm de diamètre.
Macrogamonte		1. Forme sphérique à ovoïde. Il présente en position centrale un grand noyau à nucléole proéminent, 3.2 à 5 µm de diamètre.
Zygote		1. Zygote mûr mais toujours connecté via l'organelle nourricier à la cellule hôte.

Figure3 : Différents stades évolutifs de *Cryptosporidiumsp*[54].

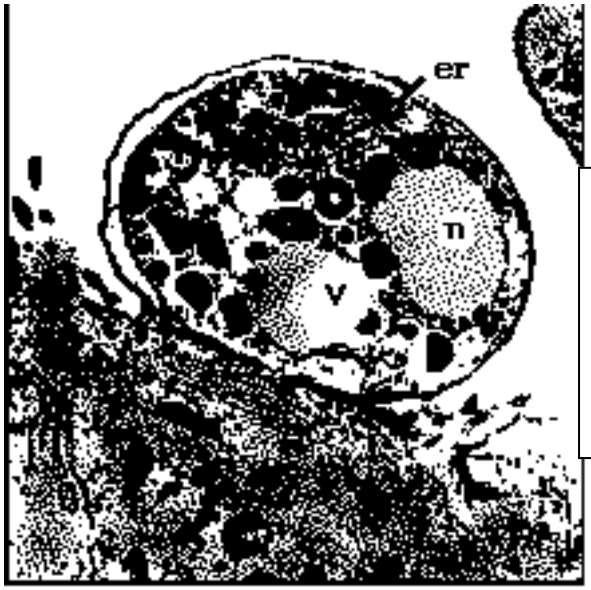


n : noyau

d :granules denses

p : pellicule

Figure 4 : Ultrastructure du mérozoïte de *C. parvum*[42]



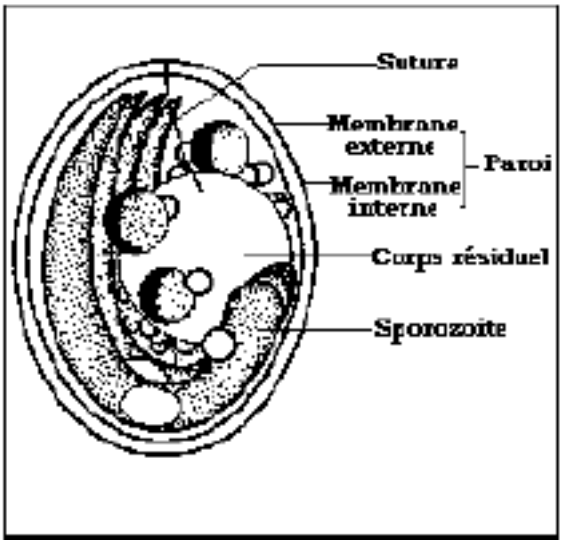
er : réticulum endoplasmique

n : noyau

v : vacuole

Figure 5: Ultrastructure d'un macrogamonte de *C. parvum*[42]





A **B**

Figure6 : Oocyste de *C. parvum* (A-Ultrastructure B-Schéma de l'oocyste) [42]

CHAPITRE 3 : la *cryptosporidiose* chez l'homme

IV. la *cryptosporidiose* chez l'homme:

La *cryptosporidiose* humaine est toujours une zoonose et l'homme est en règle contaminé par ingestion d'oocystes . La possibilité de la transmission directe et indirecte de l'animal à l'homme a été démontrée par des observations de *cryptosporidiose* chez des agriculteurs ou des vétérinaires en contact avec des bovins malades [62]. les personnes ayant des contacts répétés avec les animaux de la ferme comme les vétérinaire, les travailleurs en abattoir et les autres intervenants sont généralement exposé à un risque élevé de s'infecter et par la suite de contaminer leur entourage. La transmission de l'agent est souvent imprévisible du fait que des humains porteurs sains peuvent excréter des oocystes [65].

IV.1. Modes de contamination:

La contamination de l'homme par les espèces de *Cryptosporidium* se fait par ingestion ou par inhalation de ses oocystes matures. La transmission peut se faire directement à partir d'humains et d'animaux infectés ou indirectement par contamination de l'environnement avec des matériaux fécaux infestés tels que l'eau, l'air et les aliments. Une autre source d'infection est la salive dans la *cryptosporidiose* pulmonaire[41].

IV.2.1. Transmission directe:

- ✓ **Contamination de l'homme par les animaux**

La transmission zoonotique peut survenir d'animaux familiers de ménage (chiot et chaton), de laboratoire (rongeurs, lapin) et des animaux de ferme (vache, mouton, bétail, chevreau). Ainsi, cette transmission est fréquente chez certains

groupes professionnels à risque dont les éleveurs fermiers et les vétérinaires en contact avec les animaux infectés [85,79,86].

- ✓ **Transmission inter-humaine**

La transmission inter-humaine est possible. Elle a été décrite par Koch en 1985 dans des hôpitaux. Le personnel soignant avait été contaminé par les malades infectés. Des taux élevés d'anticorps anti cryptosporidies ont été mis en évidence chez le personnel soignant lors d'explorations sérologiques. La contamination de leur famille a également été décrite [25].

Des épidémies de *cryptosporidiose* en collectivité ont aussi été rapportées dans des garderies [103].

Les porteurs asymptomatiques constituent un risque de dissémination du parasite. La *cryptosporidiose* est classée parmi les maladies du péril fécal et les infections nosocomiales [80].

IV.2.2. Transmission indirecte:

- ✓ **Transmission hydrique**

La transmission de la *cryptosporidiose* par l'eau a été confirmée par plusieurs cas décrits dans certains pays industrialisés : États-Unis, Royaume-uni, Australie. En effet, cela a permis aux autorités sanitaires de se rendre compte du risque lié à C. parvum qui est le plus souvent retrouvé dans les eaux de surface, les eaux usées après traitement et les eaux de distribution. On a également signalé la transmission par des bains ou dans des eaux de piscine [42,120,117,110].

✓ **Contamination par les aliments**

La contamination par les aliments souillés par les oocystes de *C. parvum* a été signalée. Le parasite a été isolé du lait, des crudités, des huîtres, des saucissons, des moules ou des praires [140].

IV.2.3. Autres modalités:

Elles sont représentées par les accidents de laboratoires, la transmission par voie aérienne et la transmission mère-enfant qui a été documentée avec une présence de *C. hominis*. Une contamination lors de l'accouchement ne peut être exclue [130].

IV.3. Pathogénie:

Les mécanismes moléculaires expliquant l'action pathogène de *Cryptosporidium* sp. sont inconnus, mais on sait que le parasite est mécaniquement responsable d'une atrophie des villosités et d'une hypertrophie des cryptes intestinales. Chez l'Homme, l'utilisation des marqueurs de la phase liquide du contenu intestinal chez des personnes infectées par le VIH 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 [92,87].

IV.4. Réservoir de parasite:

La *cryptosporidiose* est une zoonose. Les porteurs asymptomatiques ou porteurs sains, parmi les animaux ou les humains (non immunodéprimés),

constituent des réservoirs insidieux de la maladie puisqu'ils excrètent des oocystes sans présenter de signes cliniques.

Le principal réservoir jouant un rôle important dans l'entretien du cycle de *Cryptosporidium* sp. est constitué par les ruminants qui contaminent l'environnement avec de grosses quantités d'oocystes.

D'autres animaux peuvent véhiculer ou accumuler le parasite dans leur organisme sans présenter de signes cliniques car ils ne sont pas des hôtes habituels de *Cryptosporidiumsp*. Les mollusques et les oiseaux migrateurs en font partie :

- Les mollusques (moule, huître, palourde…) concentrent par filtration les oocystes dans leur hémolymphe où le parasite reste viable et conserve son infectiosité sans porter atteinte à son hôte [(59)]. L'homme se contamine alors par leur consommation

- Les oiseaux migrateurs comme les oies peuvent transporter des oocystes, et leur infectiosité est conservée après le transit intestinal. Les déplacements de ces oiseaux permettent de disséminer le parasite et contaminer les environnements lacustres [(14)]. On a même détecté des oocystes sur les exosquelettes et dans l'appareil digestif de mouches [(81)], de bousiers et cafards [(63)].

IV.5. Facteurs favorisants:

L'immunodépression, notamment due à l'infection par le Virus de l'Immuno Déficience Humaine (VIH), est le principal facteur favorisant [(127)]. Les groupes de populations à haut risque sont les sujets en contact professionnel avec des animaux [(126)], le personnel médical, vétérinaire, ou de laboratoire [(15,29)], l'entourage familial des malades et les enfants âgés de moins de cinq ans, particulièrement dans les crèches où des épidémies ont été décrites [(19,31)].

IV.6. Répartition géographique et prévalence:

C'est une parasitose cosmopolite, observée sous forme sporadique ou épidémiologique. Les taux d'infection chez les immunocompétents varient entre 1 et 4,5% dans les pays industrialisés et entre 3 et 20% dans les pays en développement [(47)]. Les chiffres rapportés en Europe (1-2%) et en Amérique du nord (0,6-4,3%) sont plus bas que ceux trouvés en Asie, en Australie, en Afrique, en Amérique du sud et centrale (5-10%). Des taux plus élevés ont été observés chez des sujets séropositifs et présentant une diarrhée chronique (3% à 20% aux Etats-Unis, 50% à 60% en Afrique et à asie) [(112)].

En Côte d'Ivoire, la prévalence était de 8,7% en 1993 chez des sujets diarrhéiques séropositifs [(39)].

La prévalence de la *cryptosporidiose* est plus élevée chez les immunodéprimés, tout particulièrement chez les patients atteints de SIDA que chez les sujets immunocompétents. Au cours du SIDA, la prévalence est estimée à 24% dans les pays en développement et à 14% dans les pays développés. De nombreuses études soulignent une prévalence élevée de la maladie chez l'enfant de 1 à 5 ans. La *cryptosporidiose* est significativement plus élevée chez les enfants que chez les adultes[(12)].

V. ASPECTS CLINIQUES:

Cryptosporidiumsp. est considéré comme un entéropathogène fréquent en médecine humaine et vétérinaire. Chez l'Homme, la *cryptosporidiose* est de gravité variable ; le tableau clinique de la *cryptosporidiose* est dominé par une diarrhée hydrique dont l'intensité varie selon le statut immunitaire du sujet [(113)].

V.1. Sujets immunocompétents:

La *cryptosporidiose* intestinale peut être asymptomatique ou provoquer une gastroentérite bénigne. En cas de gastroentérite, après une incubation de 3 à 10 jours, la *cryptosporidiose* se traduit par un syndrome diarrhéique : la diarrhée est aqueuse et faite de 5 à 10 selles par jour ; des crampes, des douleurs abdominales, une perte de poids, une anorexie, un ballonnement et un malaise et, dans certains cas, des nausées, des vomissements, de la fièvre et des myalgies. La durée de la diarrhée varie de 3 à 12 jours en moyenne. Les symptômes sont spontanément résolutifs (5 jours en moyenne). Cependant, le sujet apparemment guéri peut continuer d'excréter des oocystes de *Cryptosporidiumsp*. pendant plusieurs semaines(82).

V.2. Sujets immunodéprimés:

Si le portage sain est fréquent chez les sujets immunocompétents, il n'en est pas de même chez les immunodéprimés. En effet chez ces derniers, en particulier chez les personnes vivant avec le VIH, lorsque les lymphocytes CD4 sont supérieurs à 150/mm³, les patients se comportent comme les immunocompétents vis-à-vis de la *cryptosporidiose*.A un stade de deficit immunitaire sévère (CD4 < 100/mm³), les patients développent une infection chronique grave les faisant entrer au stade SIDA. La *cryptosporidiose* est inaugurale dans environ 50% des cas. Différentes entités cliniques peuvent être individualisées(82).

V.2.1. *Cryptosporidiose* digestive:

La diarrhée est au premier plan : diarrhée liquide, cholériforme, non sanglante, incoercible, faite de 10 à 20 selles par jour et pouvant entraîner une

déperdition liquidienne de plus de 10 litres donc une déshydratation. L'évolution se fait vers une aggravation progressive avec perte de poids importante. Il peut exister une insuffisance rénale fonctionnelle et un syndrome de malabsorption. Le patient peut manifester un collapsus cardiovasculaire. La localisation duodénale peut se compliquer d'une atteinte biliaire avec tableau de cholangite sclérosante et de cholécystite alithiasique provoquant des douleurs invalidantes. Dans les formes invasives, tout le tractus digestif peut être infesté par *C. parvum*. Dans les localisations digestives hautes, *C. muris* peut être rencontré.

V.2.2. *Cryptosporidiose* pulmonaire:

Lors d'infestation digestive massive, il peut exister un envahissement pulmonaire par contiguïté. Les pneumopathies interstitielles sont décrites avec présence d'oocystes dans le lavage broncho-alvéolaire. Toutefois, il existe la plupart du temps un agent pathogène associé dont le traitement assure la guérison ; la pathogénicité dans cette localisation reste donc discutée.

CHAPITRE 4 : la *cryptosporidiose* chez les animaux

(les bovins et les caprins)

VI. Epidémiologie :

VI.1. Epidémiologie descriptive :

VI.1.1. Répartition géographique :

Les espèces de *Cryptosporidiumsp*. sont cosmopolites. L'infection a été rapportée dans 95 pays de tous les continents et sous toutes les latitudes tant en zones urbaines qu'en zones rurales, à l'exception de l'Antarctique.

La prévalence mondiale de la *cryptosporidiose* humaine est estimée entre 0,5 et 2 % dans les pays industrialisés et peut dépasser 10 % dans les pays en développement(03). Ces dernières années, *Cryptosporidiumsp*. a été identifié comme l'unique agent causant la diarrhée chez les veaux par plusieurs chercheurs dans différents pays(18).

VI.1.2.La prévalence de la *cryptosporidiose* :

prévalence de l'infection par la *cryptosporidiose* est beaucoup plus forte chez les jeunes animaux (< 2 mois) que chez les animaux âgés et tout effort visant à contrôler cette infection doit s'adresser principalement à ce groupe d'âge(17)

La prévalence représente le pourcentage d'animaux infectés par *Cryptosporidiumsp* dans une population donnée à un instant donnée. 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 des prévalences 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. (64)

VI.1.2.1.la *cryptosporidiose* chez les bovins:

L'infection se produit principalement par l'ingestion des oocystes préalablement éliminés avec les fèces des adultes porteurs asymptomatiques . Chez les adultes, l'infection à *C. andersoni* est la plus fréquente, mais il existe aussi des espèces majeures infectant les bovins : *C. parvum, C. bovis, C. ryanae* et *C. muris* (93).

Elle est aujourd'hui la première cause d'entérite diarrhéique des veaux nouveau-nés et entraîne d'importantes pertes économiques chez les ruminants nouveau-nés de part de la mortalité, les retards de croissance et le coût des traitements des animaux. Les veaux Partie bibliographique 10 nouveau-nés infectés excrètent des nombres d'oocystes de l'ordre de 106 à 107 par gramme de fèces et ont été considérées comme une source dangereuse d'infection. La quantité importante d'oocystes excrétés est à l'origine d'une contamination massive de l'environnement. Ainsi un veau nouveau-né peut facilement se contaminer par le biais des fèces des veaux voisins (99).

VI.1.2.2. la *cryptosporidiose* Chez les caprin:

Cryptosporidiumspp est très répandu en élevage **caprin** mais les données chiffrées de prévalence sont très variables, dépendant des enquêtes et des méthodes utilisées pour la recherche du parasite. Selon les différentes études réalisées, la prévalence de l'excrétion chez les caprins varie entre 0 et 43%. Comme chez les bovins, ce parasite est aussi bien retrouvé chez les jeunes que chez les adultes mais la prévalence d'excrétion est plus forte chez les jeunes

animaux non sevrés. La prévalence d'excrétion est maximale chez les chevreaux non sevrés. Elle est comprise entre 5 et 30% . Une étude réalisée en France, dans les Deux-Sèvres, chez des chevreaux âgés de 5 à 30 jours (animaux diarrhéiques et non diarrhéiques) issus de 60 cheptels, a montré une excrétion d'oocystes pour 16,2% des chevreaux avec 53,3% des cheptels testés qui possédaient au moins un animal positif. Les données concernant les chèvres adultes sont moins nombreuses et très variables d'un pays à l'autre[100].

VI.1.3.Espèces cibles :

C.parvum a été identifiée majoritairement chez les ruminants,les humains et de nombreux autres mammifères. Les humains sont essentiellement infectés par *C.hominis* et *C.parvum*. L'agent de la *cryptosporidiose* du chevreau est donc zoonotique. [75]

VI.2. Epidémiologie analytique :

VI.2.1. Source de parasite :

Le principale sources d'oocystes sont les animaux excréteurs, qu'ils aient présentés ou non des symptômes, contaminant de l'eau de boisson et des aliments Chez les bovins, les modalités augmentant la propagation de la *cryptosporidiose* sont : Le vêlage, l'alimentation en lots et le léchage des mamelles de la mère excrétrice[28]

VI.2.2. Mode de contamination :

La voie d'infection la plus commune est un contact étroit avec les fèces diarrhéiques des **bovines** et **caprines** malades. La transmission entre les 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. La contamination des espèces de *Cryptosporidium* par l'homme se fait par ingestion ou par inhalation de ses oocystes matures.(95)

Les oocystes sont très souvent retrouvé dans les eaux des surfaces :

- consommation d'eau souillée.

- bains en eau contaminé.

- dépôt de fumier sur les prairies.

- contacte directe entre les agneaux et les surfaces aquatiques.

- transmission alimentaire.(07)

VI.2.3. Dose infectante :

L'influence de la dose infectante sur l'apparition de la maladie a été étudiée par plusieurs auteurs il n'y a pas une différence entre l'infection naturelle ou expérimental concernant les signes cliniques ou l'excrétion des oocystes et la réponse immunitaire.(42)

Néanmoins, la période prépatente est de quelques jours plus long dans les infections expérimentales avec une faible dose infectante. (40)

VI.2.4. Facteurs favorisants de la contamination :

Les populations à risque sont les sujets en contact professionnel avec les animaux, le personnel médical, vétérinaire ou de laboratoire, l'entourage familial des malades, les enfants âgés de moins de 4 ans et les sujets immunodéprimés (121)

Chez l'oocyste: la taille réduite des oocystes , leur caractère sporulé ,leur résistance dans l'environnement et le réservoir de parasites, et l'excrétion massive des oocystes par les individus infectée qui assurent la contamination des ressources hydriques. (08)

Chez l'hôte: mauvaise condition d'élevage chez les petits ruminants ,La saison qui conduit à l'élevage intensive ,L'âge des animaux surtout les jeunes qui plus sensible comme les chevreaux et l'état de santé des animaux (excrétion des oocystes plus important en cas de diarrhée. (08)

VI.2.5. Spécificité de l'hôte(66) :

La spécificité de ce parasite peut être résumée dans des différents facteurs qui semblent responsables d'infection:

D'abord, on observe que certain espèces présente une prédisposition à l'infection par la *cryptosporidiose* que d'autre espèces, tel que les caprins et les bovins que les volailles par exemples.

Tandis que la race ne présente pas un facteur d'infection mais la densité d'élevage d'une race par exemple fait sembler que cette race est un facteur d'infection.

Concernant l'âge, La *cryptosporidiose* est une maladie qui touche essentiellement les nouveau-nés dont on a constaté que la majorité des cas

clinique sont des sujets entre 4 et 15 jours chez les chevreaux par exemple tandis que la maladie touche les adultes mais sans symptômes et avec un tau d'infection réduit.Par ailleurs, l'état immunitaire présente un facteur essentiel dans la prédisposition d'infection.

VI.2.6. Réservoirs de parasites:

De nombreuses espèces animales peuvent héberger le parasite : reptiles, oiseaux, mammifères, poissons. Le bétail, les chevaux et certains petits animaux (rongeurs, chiots et chatons) représentent un énorme réservoir de parasites pour l'homme.les autres animaux sont infectés par des espèces de *Cryptosporidiumsp*.non retrouvés chez l'homme[133].

CHAPITRE 5 : la *cryptosporidiose* et l'immunité

VII. la *cryptosporidiose* et l'immunité:

Chez les sujets jeunes ou immunodéficients, la *cryptosporidiose* est plus fréquente, les symptômes sont plus sévères et peuvent durer plus longtemps. Ces données laissent penser que l'immunité représente un facteur déterminant dans le contrôle de l'infection[88].

Les premières études sur les mécanismes de protection de l'hôte ont été conduites en 1984. Deux approches ont été choisies, la première, in vivo [21] chez une souris infectée par *C. parvum* et la seconde, in vitro [22] sur une lignée de cellules épithéliales permettant le développement du parasite. De nos jours, la culture in vitro présente un intérêt plutôt limité en raison de l'impossibilité de culture continue. Parmis les modèles animaux, le modèle murin, pour des raisons de coût et d'entretien, est le plus communément utilisé. Il est, en effet, possible d'implanter le parasite chez des animaux immunodéprimés génétiquement ou artificiellement . Ces modèles animaux se présentent comme des moyens complémentaires pour l'étude de l'infection par *Cryptosporidiumspp*. La difficulté reste la spécificité d'hôte de certaines espèces et de certains génotypes[20].

C. parvum est l'espèce la plus étudiée car elle est la plus répandue chez les mammifères et parce qu'elle joue un rôle prédominant dans l'infection humaine.

Chez les individus immunodéprimés, il a été montré que la sévérité de l'infection était croissante avec la diminution du nombre de lymphocyte CD4+ (< 50 cellules/mm3), soulignant ainsi l'importance de l'immunité à médiation cellulaire dans le contrôle de l'infection.

Chez l'animal, des travaux réalisés, aussi bien chez des souris athymiques présentant un déficit en lymphocytes T que chez des souris déficientes en lymphocytes B, ont montré que la maladie était plus sévère que chez des souris

ayant un état immunitaire normalIl semble donc quel'intégrité de l'immunité cellulaire et humorale soit nécessaire au rétablissement des sujets infectés[67]**.**

VII .1.Immunité innée:

L'immunité innée est la première ligne de défense de l'organisme contre les agents pathogènes. Elle permet l'activation d'un certain nombre de cellules (cellules NK, macrophages, neutrophiles, éosinophiles) qui vont sécréter des molécules (cytokines) ou bien exprimer des récepteurs spécifiques à leur surface neutralisant le pathogène. Cette immunité se met en place très rapidement à la différence de l'immunité adaptative[104].

Les cellules épithéliales sont les premières à être en contact avec le parasite. Elles ont un rôle de sentinelle et répondent à l'infection en produisant des molécules inflammatoires telles que les chémokines. Les chémokines sont des cytokines qui jouent un rôle important dans le recrutement des cellules immunitaires dans l'intestin. Lors d'une infection à *C. parvum*, les cellules recrutées sont les lymphocytes, les macrophages et les neutrophiles[115].). Les cellules épithéliales possèdent également à leur surface des TLRs (Toll like receptors). Les TLRs sont des molécules « senseur » de l'infection qui reconnaissent des motifs antigéniques de certains pathogènes appelés PAMPs (Pathogen-associated molecular patterns) (Figure 8). Une fois le motif reconnu, une cascade de signalisation cellulaire se met en place, recrutant certains adaptateurs (MyD88) qui activent des kinases permettant l'expression de facteurs tels que le facteur NF-κB, pour contrôler ou détruire le pathogène. La voie de signalisation cellulaire faisant intervenir le facteur NF-κB est activée lors d'une infection par *C. parvum* et son rôle serait d'empêcher l'apoptose des cellules infectées par le parasite[114]. En effet, le facteur NF-κB induit l'expression de molécules pro-inflammatoires telles que les prostaglandines et les chémokines responsables de la prévention de l'apoptose (Figure 8). Il a été montré que,

C. parvum lors de son entrée dans les cellules épithéliales induisait une forte excrétion de prostaglandines stimulant ainsi une forte production de mucine et une prolifération lymphocytaire (cellules T)[60]. Des études sur l'inactivation des TLR2, TLR4 et MyD88 ont montré une inhibition de l'activation du facteur NF-κB et ainsi une augmentation du niveau d'infection par *C. parvum*. Les TLRs présents à la surface des cellules épithéliales jouent donc un rôle importantdans l'initiation de la lutte contre l'infection. Le problème est, qu'à l'heure actuelle, les PAMPS présents sur le parasite activant les TLRs ne sont pas encore identifiés. Enfin, les cellules épithéliales intestinales peuvent produire des peptides antimicrobiens pouvant neutraliser les bactéries ou parasites en détruisant leurs membranes. Parmi ces peptides, on trouve les β défensines, qui in vitro, ont présenté un rôle dans la lutte contre *C. parvum*. Il a été montré que ces molécules étaient très fortement exprimées chez les veaux lors d'une infection par *C. parvum*[105]**.**

Les cellules NK jouent un rôle majeur dans l'immunité innée en particulier en réponse à une infection intracellulaire par des virus, bactéries et parasites. D'une part, ces cellules ont une activité cytotoxique sur les cellules infectées, et d'autre part, elles peuvent produire des cytokines pro-inflammatoires (en particulier l'IFN-ɣ) stimulant l'activité antimicrobienne des autres cellules recrutées au niveau du site d'infection. Les cellules NK possèdent à leur surface un complexe de récepteurs (activateur/inhibiteur) régulant leur activité cytotoxique. Elles s'activent lors de la reconnaissance de ligants exprimés à la surface des cellules infectées ou stressées, et relarguent des substances (perforines-granzymes) s'attaquant aux membranes cellulaires des cellules infectées (Figure 9). Ces cellules produisent de l'IFN-ɣ qui semble jouer un rôle très important dans les réponses immunitaires innées de l'hôte contre l'infection par *C. parvum*. Des études chez des souris immunodéprimées (« nude » : déplétion des cellules T et « SCID » : déplétion des cellules T et B) possédant des cellules NK normales ont montré que l'IFN-ɣ avait un rôle dans le contrôle de *C. parvum*[35]**.**

Le rôle du complément des cellules dendritiques et des macrophages dans la lutte contre *C. parvum* n'est pas encore bien connue**.**

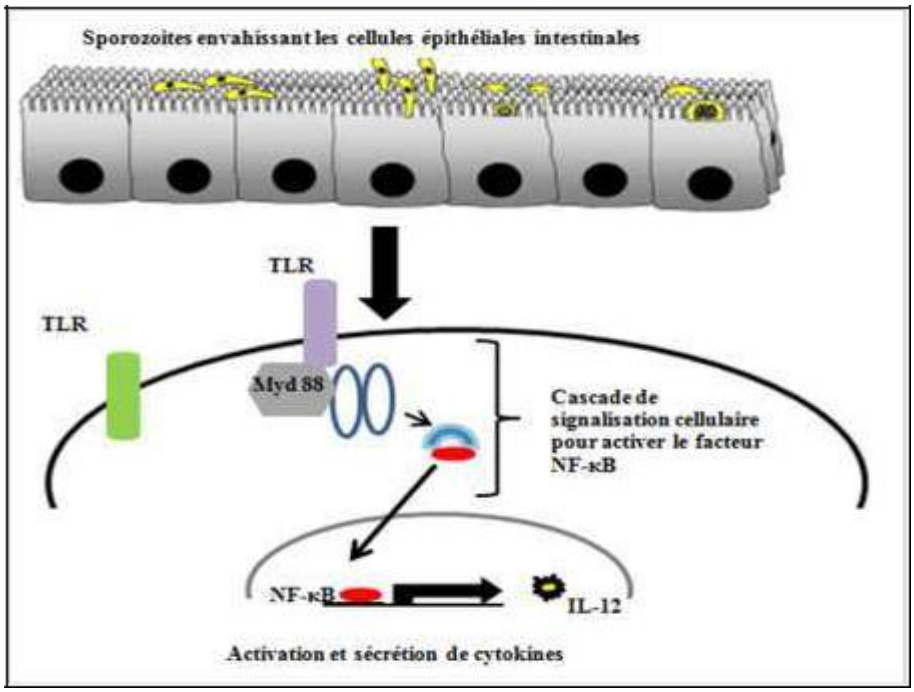


Figure 7 : Représentation schématique et simplifiée de la voie de signalisation cellulaire quiactive le facteur NF-κB lors de l'infection par*Cryptosporidium spp*(140)

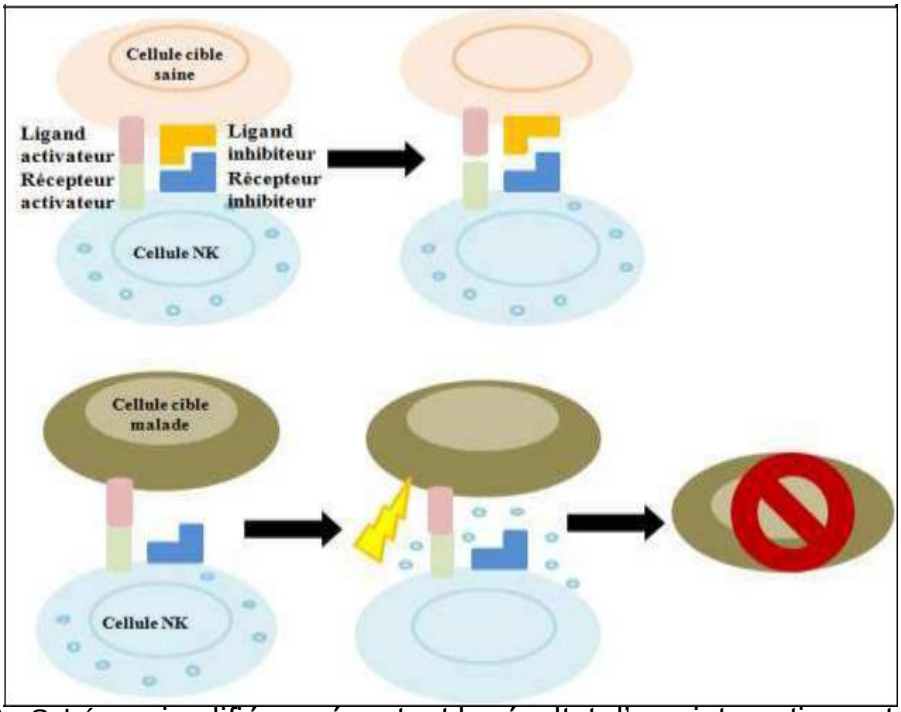


Figure8 : Schéma simplifié représentant le résultat d'une interaction entre des cellules NK et des cellules cibles saines ou malades(140)

VII .2.Immunité adaptative:

L'immunité adaptative s'installe une fois l'immunité innée mise en place. Elle prend le relais en amplifiant certains mécanismes de lutte mis en place par l'immunité innée. L'immunité adaptative fait intervenir deux principaux acteurs, les lymphocytes T et les lymphocytes B. Ici, le système immunitaire de l'hôte va réagir suite à une reconnaissance spécifique, par les cellules B et T (de l'hôte), d'un antigène spécifique du pathogène. L'élimination se fait en général de façon rapide. Cette immunité, à la différence de l'immunité innée, possède une « mémoire immunologique » permettant ainsi aux cellules B et T de réagir plus rapidement en cas de ré-infection. Les cellules T CD4+ s'activent lors d'un contact avec un antigène. Certaines cellules T (auxilliaires) ont également un rôle dans l'activation des cellules B qui aboutit à la production d'anticorps (immunité à médiation humorale)[43].

VII.2.1 Immunité à médiation cellulaire:

L'importance des cellules T dans l'infection à *Cryptosporidiumspp* a été montrée pour la première fois chez des souris « nude ». Par la suite, des études réalisées sur des souris SCID (lignée de souris ne possédant pas de lymphocytes T et B ni d'immunoglobulines) et chez des individus immunodéprimés ont montré le rôle crucial des cellules T CD4+ dans la maîtrise de l'infection par *Cryptosporidium*[43]. En effet, il a été montré que la sensibilité à la maladie chez les individus immunodéprimés dépendait du nombre de cellules TCD4+ de l'individu. Les individus chez qui le taux de CD4+ est inférieur à 50 cellules/mm3 déclenchent la forme fulminante de la maladie alors que les individus ayant plus de 180 cellules/mm3 développent une forme moins sévère de la maladie. Les réponses T CD4+ sont largement guidées par la sécrétion d'IFN-ɣ. Cette cytokine a un rôle important à la fois lors de la mise en place de l'immunité innée mais aussi dans le contrôle précoce de l'infection par les cellules TCD4+[83].

D'autres cytokines telles que l'IL12, le TNF α, l'IL4, l'IL5… interviennent lors de l'infection par *C. parvum*. L'IL12 est un important régulateur de l'IFN-ɣ bien que d'autres régulateurs semblent intervenir lors de sa secretion[116].

Chez les veaux nouveau-nés, une étude a montré que l'IL12 provoquait une forte réponse immunitaire (sécrétion IFN-ɣ et augmentation du nombre de lymphocytes) mais que celle-ci ne suffisait pas à protéger les animaux de l'infection par *C. parvum*.

Les études réalisées sur le rôle du TNF α (cytokine pro-inflammatoire produite par les cellules T) lors de l'infection par *Cryptosporidium* s'opposent. Une étude a montré que cette cytokine était « up-régulée » dans l'intestin durant l'infection chez les souris et qu'elle était à l'origine du contrôle du parasite. D'autres études ont montré que le TNF α avait une action inhibitrice sur le développement de *C. parvum* sur des lignées cellulaires d'entérocytes humaines et murines. Alors qu'une autre étude, a montré que cette molécule n'était pas nécessaire[90].

L'IL4 et l'IL5 ont également un rôle dans la lutte contre le parasite. En effet, il a été montré que, lorsque ces molécules n'étaient pas sécrétées chez des souris génétiquement modifiées, le niveau d'infection était plus élevé que chez des souris sauvages.

Enfin, le rôle des cellules T CD8+ dans l'immunité contre *C. parvum* est beaucoup moins clair[76].

VII.2.2 Immunité à médiation humorale:

Des études ont montré la présence d'anticorps spécifiques de *C. parvum* durant l'infection chez l'homme, les bovins et ovins. Il a été montré que les titres en immunoglobulines (IgG, IgA et IgM) mesurés en ELISA augmentaient durant

l'infection et déclinaient ensuite. Dans le sérum les IgG peuvent persister plusieurs mois. Chez les individus immunocompétents infectés par *C. parvum*, il a été montré que le taux d'IgA sécrétoires était plus fort chez les individus excréteurs et les individus présentant des signes cliniques[72] . D'après certaines études, des patients souffrant d'hypogammaglobulinemie congénitale ne seraient pas capables de lutter contre l'infection à *C. parvum* Cependant, d'autres études ont 77 montré que chez les patients sidéens atteints de *cryptosporidiose* chronique le taux d'IgA était assez élevé. De plus, les investigations réalisées chez des souris immunodéficientes en cellules B ont rapporté que les anticorps ne jouaient qu'un faible rôle dans l'élimination du parasite[47].

Chez les veaux, des études ont montré qu'un bon transfert du colostrum était un facteur protecteur vis à vis de *Cryptosporidiumspp*. Il a été montré que des veaux nouveau-nés sains possédaient des anticorps spécifiques (IgA, IgM, IgG) de l'antigène situé à la surface des sporozoites (p23). Ces anticorps provenaient du colostrum. L'administration orale de sérum de bovin contenant des anticorps anti-*C.parvum* réduirait la diarrhée et le développement du parasite chez l'individu après infection, suggérant que les anticorps neutralisants peuvent protéger partiellement contre la maladie. Cependant l'administration orale de colostrum bovin contenant des anticorps anti*C. parvum* ne permettrait pas un contrôle de la *cryptosporidiose* chronique chez l'homme[89].

Enfin, il a été rapporté que, sur des veaux maintenus isolés, une infection d'épreuve à *C. parvum* provoquait une diarrhée et une forte excrétion chez des animaux âgés de 1 semaine à 3 mois et, qu'après le rétablissement des animaux, la ré-infection avec *C. parvum* était impossible. Par ailleurs, chez les veaux, une succession d'espèces de *Cryptosporidiumspp* en fonction de l'âge des animaux a été montrée, signifiant donc qu'une infection par une espèce ne confère pas d'immunité face à une autre espèce de *Cryptosporidium*. Ces études présentent

donc que les mécanismes de contrôle du parasite peuvent être très complexes selon les espèces hôtes et les espèces de *Cryptosporidiumspp*[98].

Les informations disponibles concernant l'immunité humorale mise en place lors d'une infection par *Cryptosporidiumspp* se contredisent. Ceci peut se traduire par le fait que cette immunité, à elle seule, joue un rôle mineur dans le contrôle de l'infection par *Cryptosporidiumspp*. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que *C. parvum* a une localisation majoritairement intracellulaire et qu'il se développe au sein d'une vacuole parasitophore, lui conférant une certaine protection contre les anticorps de l'hôte[77].

En résumé, les acteurs (cellules épithéliales, cellules NK et la sécrétion d'IFN-ɣ) de l'immunité innée ont un rôle important dans le contrôle initial de l'infection par *Cryptosporidiumspp*. En effet, l'IFN-ɣ est l'une des molécules centrales dans la lutte contre le parasite, elle permet le recrutement de cellules et la mise en place de mécanismes permettant l'inactivation du parasite. Les cellules TCD4+, elles, ont un rôle important lors de la mise en place de l'immunité adaptative. Enfin, les données concernant l'immunité à médiation humorale montrent que les anticorps n'ont pas un rôle essentiel dans la maîtrise de l'infection, bien que la situation clinique puisse être davantage favorable lors d'un transfert satisfaisant de l'immunité passive.

CHAPITRE 6 : Diagnostic et traitement de la *cryptosporidiose*

VIII. Diagnostic biologiquede*Cryptosporidiose*:

VIII.1.Diagnostic parasitologique:

Le diagnostic de la *cryptosporidiose* est basé sur l'examen coprologique. Les oocystes sont mis en évidence dans les selles des sujets infectés grâce à diverses techniques. Au cours de la *cryptosporidiose*, l'émission des parasites peut être discontinue et les parasites rares dans les selles. Les examens devront alors être répétés(52).

VIII.1. 1.Prélèvements:

Cryptosporidiumsp. est observé principalement dans les selles. L'examen direct se fait sur un frottis de selles. Les selles sont généralement diarrhéiques ; elles peuvent également être moulées ou molles. Des oocystes peuvent être retrouvés dans le liquide jéjunal ou la bile et très exceptionnellement dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire. Les *cryptosporidies* peuvent également être mises en évidence par examen histopathologique de biopsies intestinales après coloration à l'hématoxyline(53).

VIII.1.2. Techniques:

La faible quantité des oocystes justifie l'utilisation de techniques de concentration comme celle de Ritchie simplifiée par Allen et Ridley.

VIII.1.2. 1.Examen direct:

Il permet de mettre en évidence les oocystes des *cryptosporidies*. L'oocyste apparait sous forme d'élément arrondi ou ovalaire, réfringent, d'aspect granuleux, mesurant 4 à 6 µm et présentant un point noir bien visible correspondant au corps résiduel.

Cependant, l'identification directe est délicate : les oocystes peuvent en effet être confondus avec d'autres micro-organismes (levures, Blastocystis hominis, kystes de flagellés), et l'adjonction de Lugol à 2 % qui colore les autres éléments en brun et respecte les oocystes ne peut suffire à affirmer le diagnostic [09]. (Figure 09)

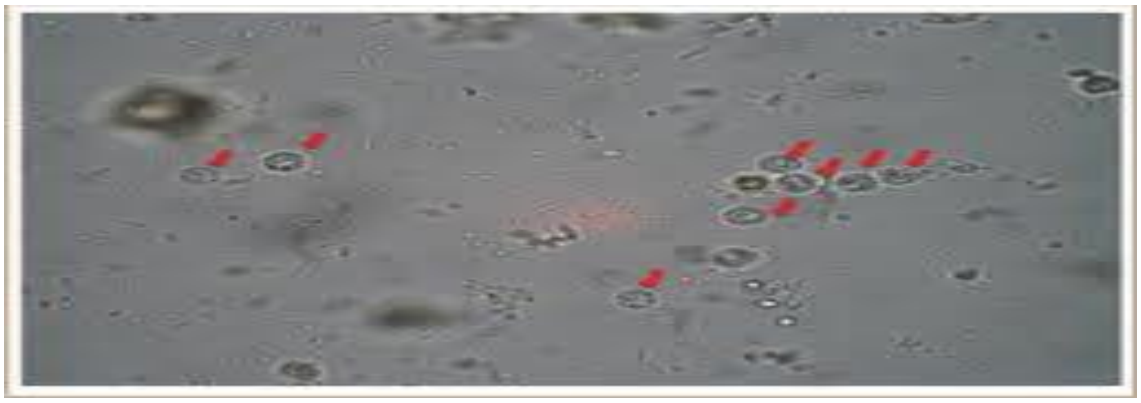


Figure9 : Oocystes de *Cryptosporidiumsp*.à l'examen direct (Gx100)[09]

VIII.1.2. 1.1.Technique de coloration de Ziehl Neelsen modifiée par Henricksen et Pohlenz :

C'est la technique de référence. La coloration de Henricksen en utilisant la fuschine phéniquée à froid permet de voir les oocystes colorés en rouge vif de 4 µm environ à paroi peu épaisse contenant le corps résiduel et les noyaux des sporozoïtes. Les parasites se détachent nettement du fond vert de la préparation. (Figure10)

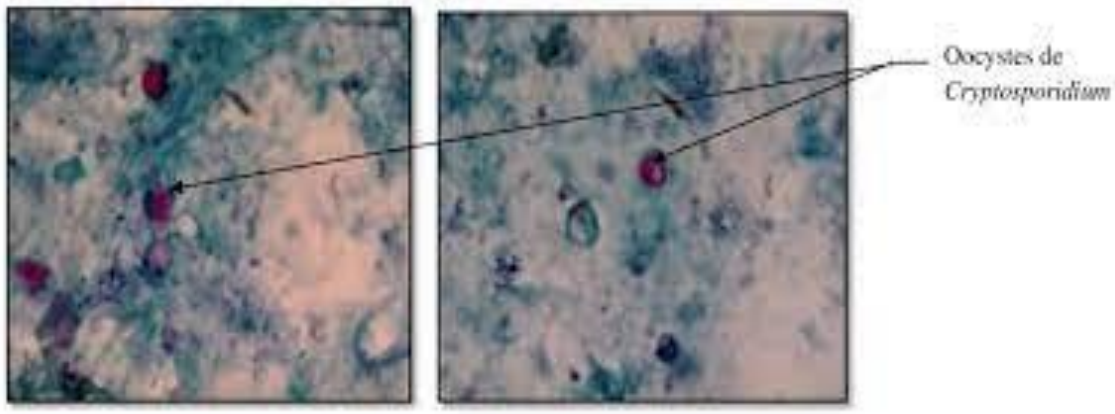


Figure10 : Identification d'oocystes de *Cryptosporidiumsp*. à l'examen parasitologique des selles (x100) : coloration de Ziehl Neelsen modifiée [09]

VIII.1.2. 1.2. Technique de coloration de Heine:

Elle utilise également comme réactif la fuschine phéniquée. Cependant, le vert de malachite n'est pas utilisé. Sur une lame bien dégraissée, étaler une goutte de selle fraîche ou formolée mélangée à une goutte de réactif. Sécher ce frottis mince à l'air jusqu'à ce que son aspect soit bien mat. Dès que la préparation est sèche, la recouvrir d'une goutte d'huile à immersion. La lecture se fait immédiatement à l'objectif x 40, puis x 100 sur un microscope à fond clair ou un microscope à contraste de phase. Les sporocystes apparaissent comme des éléments incolores très réfringents, arrondis ou ovalaires, mesurant 4 à 6 µm et se détachant nettement sur le fond rouge du colorant.

Le corps résiduel apparaît sous la forme d'un point noir. La réfringence caractéristique des sporocystes ne persiste qu'une quinzaine de minutes, ce qui exclut toute possibilité de lecture différée ou de conservation des préparations. (Figure 11)

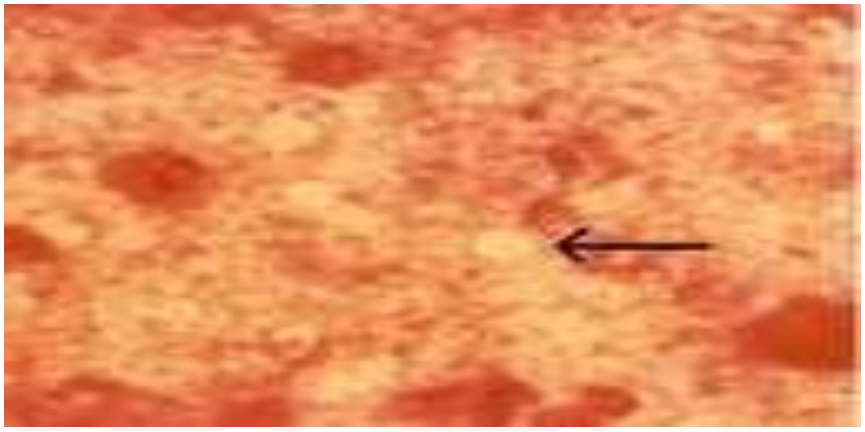


Figure 11 : Identification des sporocystes de *Cryptosporidiumsp*. à l'examen parasitologique des selles (x100) : coloration par la technique de Heine [09]

VIII.1.2. 1.3.Coloration au Giems:

La ***coloration*** de *Giemsa* est basée sur l'utilisation du colorant *Giemsa*, un colorant bleu neutre constitué d'un colorantet les réactif.

Réactifs:

- solution I : Phosphate disodique anhydre 9,5 ‰

- solution II : Phosphate monosodique 9,2 ‰

- solution de Giemsa : Giemsa RAL (15 gouttes) eau neutre 10 ml

Pour obtenir une solution à pH = 7,2, on fera la préparation suivante :

- solution I : 72 ml

- solution II : 28 ml

- eau distillée : 900 ml

Mode opératoire:

Faire un frottis mince de la selle. Recouvrir le frottis par du méthanol pendant 5 minutes et laisser sécher. Recouvrir la préparation par la solution de Giemsa. Laisser agir pendant 10 minutes pour le Giemsa rapide ou 20 minutes pour le Giemsa lent. Rincer à l'eau neutre. Les sporocystes sont colorés en rose ou en violet plus ou moins foncé. Le cytoplasme est granuleux avec une zone centrale peu claire. Le corps résiduel est très apparent, et les sporozoïtes sont colorés en rouge foncé[122] (figure 12)



Figure 12 : Identification des sporozoïtes de *Cryptosporidiumsp*. à l'examen parasitologique des selles (x100) : coloration au Giemsa [09]

VIII.1.2. 1.4.Technique de flottation de Sheather:

Réactifs :

Saccharose : 55 g

Eau distillée : 355 ml

Phénol : 7,2 g

On obtient ainsi une solution de saccharose de densité 1,27.

Mode opératoire :

Diluer les selles dans du sérum physiologique. Homogénéiser et filtrer au travers d'un tamis métallique. Centrifuger le filtrat à 1500-2000 tours/minute pendant une à deux minutes. Reprendre le culot par 10 ml de la solution de saccharose. Agiter et centrifuger à 1500-2000 tours/minute pendant 2 minutes. Prélever une à deux gouttes du surnageant en surface et observer entre lame et lamelle au grossissement x 40 puis x 100. Par cette technique, les sporocystes sont légèrement diminués de taille et mesurent environ 4 à 5 µm de diamètre. Pour éviter tout risque de confusion avec les levures, on fera une coloration différentielle dans une solution de Lugol à 2%. Les sporocystes de *Cryptosporidiumsp*. ne se colorent pas tandis que les levures se colorent en brun ou en jaune foncé. La lecture doit se faire dans les 15 minutes qui suivent la technique de concentration (figure 13).

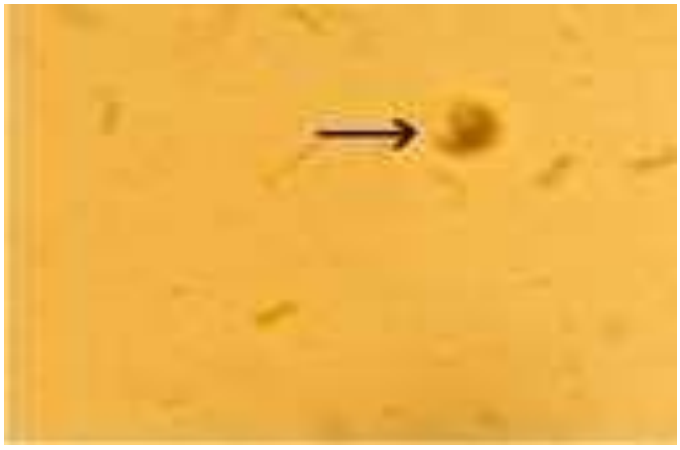


Figure 13 : Identification des sporocystes de *Cryptosporidiumsp*.à l'examen parasitologique des selles (x100) : coloration par le lugol à 2% [(99)]

VIII.1.2. 1.5.Technique à la glycérine :

Elle a été décrite par Dutoit et al.[30] en 1988.

Une goutte de selle fraîchement émise ou issue du culot de concentration par la technique de Ritchie simplifiée par Allen et Ridley [10] est déposée sur une lame et mélangée à une goutte de glycérine pure. La préparation est recouverte d'une lamelle. Au bout d'une minute, on fait la lecture au grossissement x 40. Les sporocystes ont un aspect proche de celui obtenu par la technique de Sheather.

Ce sont des éléments arrondis ou légèrement ovalaires de 4 à 5 µm de diamètre, transparents, avec des reflets bleutés et souvent déprimés sur une face.

Au-delà de 15 minutes, les éléments parasitaires ne sont plus visibles.

VIII.1.2. 1.6.Technique de Köster:

Faire un frottis mince de la selle. Fixer au méthanol pendant 3 à 4 minutes. Laisser sécher à la température du laboratoire. Colorer pendant 5 minutes par le réactif suivant : 2 volumes d'une solution aqueuse de safranine à 2,5% dans 5 volumes d'une solution de potasse à 5%. Rincer à l'eau. Différencier dans une solution d'acide sulfurique à 0,1% pendant 10 secondes. Rincer à l'eau. Contrecolorer avec une solution de vert malachite à 5% pendant 10 à 15 secondes. Rincer à l'eau. Sécher.

Les sporocystes apparaissent colorés en rose orangé, brillants, dans un halo clair, sur un fond vert pâle(figure 14)



Figure 14 : Identification des sporocystes de *Cryptosporidiumsp*. à l'examen parasitologique des selles (x100) : coloration à la safranine [09]

VIII.2. Diagnostic immunologique:

VIII.2. 1.Recherche des antigens:

On a utiliser les méthodes immuno-enzymologiques et immuno-fluorimétriques en pleine expansion[61]. Elles sont basées soit sur le marquage des sporocystes par des anticorps monoclonaux fluorescents, soit sur la recherche dans les selles des antigènes de *cryptosporidies* par immunocapture.

Les tests sont applicables sur les selles fraîches ou formolées. Ils sont simples et d'utilisation aisée, mais leur sensibilité serait inférieure à celle de la coloration de Ziehl Neelsen.

Les tests sérologiques seraient sensibles et spécifiques. Mais la séroconversion semble tardive de sorte que la sérologie serait surtout utile pour estimer la prévalence de la *cryptosporidiose* dans la population donnée.

VIII.2. 2.Recherche des anticorps:

Des anticorps sériques de classe Ig G, A, M, et E apparaissent au cours de l'infection à *Cryptosporidium* et sont décelables par immunofluorescence, Elisa ou Western blot [123].

Ils apparaissent habituellement vers le 15ème jour suivant l'infestation, atteignent leur maximum en 2 à 3 mois et persistent plus d'un an.

La sérologie est utilisée dans le cadre des enquêtes épidémiologiques ou dans l'analyse de la réponse immunitaire de l'hôte[107].

VIII.2. 2.1.Les techniques d'immunofluorescence avec anticorps monoclonaux:

Les techniques d'imrnunofluorescence avec anticorps monoclonaux ou polyclonaux ont été proposées pour améliorer la détection des ookystes dans les spécimens fécaux' Des anticorps monoclonaux et polyclonaux spécifiques à *C. parvum* sont utilisés dans les techniques d'irnmunofluorescence directe et indirecte pour détecter les ookystes dans ces échantillons peu concentrés1000. L'immunofluorescence directe est plus utilisée parce que l'immunoftuorescence [38]indirecte implique une procédure plus longue tout en étant moins sensible'22. Avec une sensibilité et une spécificité de 100%, les tests d'irnmunofiuorescence directe avec anticorps monoclonaux représentent une méthode efficace de détecter des ookystes, même quand ils ne sont pas présents en nombre important' 9 Les tests d'imrnunofluorescence sont influencés par les techniques de concentration préliminaires ainsi que par les consistances anormales de certains spécimens fécaux' On a rapporté. avec l'utilisation de l'immunofiuorescence indirecte, des réactions croisées entre *Cryptosporidioses*pp. et *Eirneria spp*. qui partagent des antigènes communs123.

L'irnrnunofluorescence se révèle une technique plus efficace pour le dépistage des ookystes que la coloration par le Ziehl-Nielsen97.[36], la

fluorescence avec anticorps monoclonaux est 10 fois plus sensible que les colorations alcoolo-acido résistantes et elle génère moins de faux-positifs ou de faux-négatifs124. Il est possible de détecter jusqu'à 1000 ookystes/g dans des fèces diarrhéiques de veaux avec l'immunofluorescence directe'2. Ces résultats pourraient quand même ne pas être représentatifs à cause de la présence d'une grande concentration en gras dans les selles de veaux126. Il a été démontré que les lipides présents dans les selles humaines réduisent la sensibilité de l'imrnunofluorescence102"'8. ont démontré un seuil de détection de 5 000 à 10 000 ookystes/g dans des selles diarrhéiques humaines et de 10 000 à 50 000 ookystes/g dans des selles solides.

La première trousse commerciale utilisant des anticorps monoclonaux spécifiquesà la membrane des ookystes de *C. parvum* a et *Merifluor* (Meridian Bioscience, Cincinnati, OH). Cette méthode est désormais considérée comme la méthode de référence pour la détection de *Cryptosporidiurn parvum*117.127-130 Merifluor® est très spécifique (100%) et 20 fois plus sensible que les colorations alcoolo-acido résistantes en utilisant un seuil de détection de 100 ookystes/g1 18.130 Après avoir comparé diverses techniques de détection, ont conclu que Merifluor® représente la technique de détection idéale, étant simple à effectuer en diminuant le nombre de manipulations et en permettant le regroupement les analyses. De plus, selon ces chercheurs, elle est moins coûteuse que les trousses ELISA et les résultats sont faciles à interpréter128. Cette méthode nécessite un microscope à fluorescence pour l'observation des résultats. Plusieurs trousses commerciales utilisant l'immcinofluorescence sont disponibles. On doit considérer avant d'arrêter son choix, en plus de leur sensibilité et leur spécificité. des facteurs comme leur coût, la facilité de leur utilisation incluant l'observation des résultats (couleur. intensité de la fluorescence), la disponibilité de l'équipement et du personnel qu'elles nécessitent et le nombre de tests à effectuer(36).

VIII.2.2.2. Techniques de capture d'antigènes (ELISA):

Dans ce cas, ce sont les antigènes de *Cryptosporidiumspp* qui sont recherchés dans les fèces (on parle alors de copro-antigènes) [78]. De nombreux kits sont commercialisés. Certains sont utilisés pour la recherche d'antigènes dans les fèces et d'autres pour la recherche d'antigènes dans les aliments, l'environnement…. Selon les kits, les copro-antigènes de *cryptosporidies* sont détectés et révélés par un mélange d'anticorps monoclonaux et polyclonaux. Ces kits renferment tous les réactifs nécessaires à la réalisation de l'analyse et les instructions du fabricant. Cette technique ne permet pas la quantification des oocystes[24]

VIII.2.2.3.Techniques d'liémagglutination:

Nussabaum et ses collaborateurs ont décrit une méthode de « Quantitative Latex Hernaggiutination Assay (QLAT)» pour la détection d'ookystes de *C. parvum*139. Des suspensions de microsphères en latex jaune sont couvertes d'anticorps de *C. parvum*. Les antigènes présents dans une solution diluée de matières fécales induisent une agglutination de la part de toutes ou quelques-unes des billes. Cette agglutination mène à la modification de la densité optique de la suspension des microsphères à une longueur d'onde de 405 nm. La réduction de l'absorbance est directement proportionnelle à la quantité d'agglutination. Les avantages de cette technique sont qu'elle est relativement rapide (20 minutes par analyse), qu'aucune étape de lavage n'est nécessaire, contrairement aux ELISA, et finalement que la technique peut être automatisée39. Auparavant, farrington et ses collaborateurs (1994) avaient décrit une technique d'hémagglutination passive inversée (« Reverse Passive Hémagglutination Assay

» avec une sensibilité comparable à l'immunofluorescence indirecte (93,3%) et supérieure à certains systèmes ELISA[137].

VIII.3. Diagnostic anatomopathologique:

Les coupes biopsiques de la muqueuse intestinale parasitée montre une muqueuse inflammatoire ; les villosités sont parfois altérées avec atrophie ou fusion villeuse, et elles apparaissant alors plus allongées[48].

En pratique, les prélèvements sont fixés dans le liquide de Bouin ou dans le formol à 10% puis colorés par l'hématoxyline éosine (HES) (Figure 14) ou au Giemsa.

Après coloration à l'HES, les *cryptosporidies* apparaissent comme des organismes arrondis, de 4 à 6 µm de diamètre, accolés à la surface de la muqueuse intestinale.

L'étude au microscope électronique a montré des parasites toujours superficiels mais situés entre la membrane cellulaire et le cytoplasme de l'entérocyte. Le parasite est repéré à tous les stades de développement.

Le marquage par un anticorps monoclonal spécifique permet l'étude ultra structurale de la muqueuse intestinale et améliore le diagnostic. Toutefois, il existerait des réactions croisées avec *Pneumocystis jirovecii*[23].



Figure 15 : Identification d'oocystes de *Cryptosporidiumparvum* (flèches) à l'examen anatomopathologique d'une muqueuse duodénale parasitée: coloration à l'hématoxyline-éosine (x400)[125]

VIII.4. Diagnostic moléculaire:

Identification des espèces et sous-types de *Cryptosporidiumspp*, utilisation de la biologie moléculaire.

Les techniques de détection immunologiques ou par coloration présentées ci-dessus ne permettent pas de différencier les espèces de *Cryptosporidiumspp*. L'identification des espèces et sous types de *Cryptosporidiumspp* n'est possible que par les techniques de biologie moléculaire, qui favorisent l'étude plus fine de l'épidemiologie de ces parasites [68].

VIII.4.1. Extraction de l'ADN de *Cryptosporidiumspp*:

Afin de pouvoir procéder à l'identification de l'espèce en présence, il est nécessaire d'extraire l'ADN d'intérêt. A ce jour, aucune méthode n'est unanimement recommandée concernant l'extraction d'ADN à partir des oocystes de *cryptosporidies* et l'efficacité de la plupart des méthodes décrites n'est pas complètement définie (2007/ 2010). Cette étape est cependant cruciale. En effet, si l'extraction n'est pas optimale, le résultat obtenu par la suite risque d'être

faussé surtout lors du traitement d'échantillons peu chargés en oocystes (100 à 1000 oocystes).

L'extraction peut se faire selon différentes méthodes : soit à partir d'échantillons concentrés, soit directement à partir des matières fécales . Selon certaines études, la sensibilité des techniques de biologie moléculaire (PCR) utilisées pour l'identification des espèces de *Cryptosporidiumspp* serait moins élevée lorsque l'extraction est faite directement à partir des matières fécales. Ceci peut s'expliquer par le fait qu'au sein des matières fécales, de nombreuses substances peuvent inhiber ou interférer avec les PCRs (lipides, sels biliaires, polysaccharides) [(69)].

De nombreux kits d'extraction sont commercialisés, certains sont manuels et d'autres préparés pour une utilisation en association avec un extracteur automatique Selon les kits et les automates, les procédures et produits peuvent être différents. Pour certaines techniques, des produits ayant une interaction négative avec les étapes de biologie moléculaire peuvent être utilisés (le SDS, par exemple, qui inhibe l'activité de laTaq polymérase). De même, il a été montré que, pour certains kits, une perte d'ADN était observée du fait de l'utilisation de colonnes en silice.

Les techniques adoptées peuvent être différentes selon les laboratoires, dépendant du matériel disponible et/ou du type d'échantillons à traiter.

VIII.4. 2.Les réactions d'amplification en chaine par polymérase (PCR):

Les techniques de détection d'acide nucléique permettent l'identification de l'espèce de *Cryptosporidium spp* et sont reconnues comme étant théoriquement plus sensibles que les techniques immunologiques et de coloration .

La réaction de PCR, ainsi que les méthodes associées (analyse du polymorphisme de longueur des fragments de restriction (RFLP), séquençage, génotypage multilocus, PCR quantitative (PCRq)), sont autant de techniques qui permettent la détermination des espèces et des sous-types de *Cryptosporidiumspp* .

La PCR est ainsi décrite comme étant plus sensible que les techniques de diagnostic conventionnelles pour détecter la présence de *Cryptosporidium* dans les matières fécales, bien que la sensibilité des méthodes PCR publiées soit variable . ont rapporté une spécificité de 100% et une sensibilité de 59 à 79% (selon les protocoles de nested-PCR) comparées aux techniques de microscopie et immunologiques (IF et ELISA)[111].

Il a été montré que les PCR nichées étaient plus sensibles et spécifiques que les PCR en un seul tour et que la PCR quantitative était la plus sensible à l'heure actuelle. L'étude qui montré grâce à la comparaison de différentes techniques de détection des oocystes de *Cryptosporidiumspp* (IF, Auraminephénol, Nested PCR, PCR q), que la sensibilité et la spécificité des tests utilisés variaient en fonction de l'âge des animaux infectés et du niveau d'infection.

Les principales séquences cibles utilisées pour l'identification des espèces de *Cryptosporidiumspp* sont la petite sous-unité de l'ARN ribosomal 18S (PCR 18S), la protéine de choc thermique HSP 70 et la protéine de paroi de l'oocyste.

Il n'existe pas de protocole PCR « standard » pour l'identification des espèces ou sous type de *Cryptosporidiumspp*. Cependant, un des éléments importants dans la réalisation de la technique est le choix (ou dessin) des amorces, car certaines ciblent des régions conservées du gène cible (spécifique du genre *Cryptosporidium* par exemple) et d'autres ciblent des régions polymorphiques du gène cible permettant de différencier les espèces du genre. Des protocoles de RFLP ou de séquençage sont couplés aux PCR (excepté pour

la PCR quantitative). Ce sont ces deux techniques, une fois l'ADN d'intérêt amplifié, qui nous permettent d'identifier l'espèce ou les espèces en présence [133].

VIII.4.3. Identification des espèces de *Cryptosporidiumspp*:

VIII.4.3. 1.Amplification par PCR 18S associée au séquençage :

La PCR nichée ciblant le locus ADNr18S (PCR 18S) est utilisée dans la majorité des études d'épidémiologie moléculaire conduites chez les ruminants. En effet, un grand nombre de copies (20 copies) de cette cible est présent dans le génome de *Cryptosporidium* ,Ce gène contient des régions conservées (au sein du genre *Cryptosporidium*) où sont intercalées des régions hautement polymorphiques (propre à chaque espèce), ce qui facilite le dessin d'amorces pour l'amplification. De nombreuses études ont été réalisées concernant les amorces à utiliser lors de la réalisation d'une PCR 18S. Il a été montré que les amorces t les plus sensibles, en particulier sur des échantillons contenant peu d'oocystes (moins de 10 oocystes), et que les amorces décrites par Xiao et al. avaient l'avantage de détecter un plus grand nombre d'espèces de *Cryptosporidiumspp* [118].

Encore une fois, selon les études, les protocoles d'amplification et les amorces utilisées peuvent être différents.

Des études sur la sensibilité de la PCR 18S ont été conduites. ont observé que le nombre d'échantillons détectés positifs pour *Cryptosporidiumspp* était plus important après la réalisation de PCR qu'après une analyse en immunofluorescence. Cependant, bien que la PCR soit théoriquement considérée comme l'une des méthodes les plus sensibles pour la détection de *Cryptosporidiumspp*, la sensibilité réelle de celle-ci peut être largement réduite

dans des échantillons de matières fécales, du fait de l'effet de la matrice (présence de substances inhibitrices) et/ ou du fait d'un trop faible nombre d'oocystes présents dans l'échantillon (par exemple animaux adultes infectés).

La technique de PCR associée au séquençage, bien qu'étant la plus utilisée, présente par ailleurs, un inconvénient majeur : elle ne permet la détection que de l'espèce majoritaire, alors qu'il est envisageable qu'un échantillon puisse contenir plusieurs espèces de *Cryptosporidiumspp*. Un protocole RFLP associé à cette PCR 18S a l'avantage de mettre en évidence les infections mixtes[44].

VIII.4.3. 2.PCR-RFLP:

La PCR-RFLP est une technique qui permet l'identification des espèces de *Cryptosporidium* préalablement connues et la détection d'infections mixtes. Cette technique est largement utilisée, car plus rapide et moins coûteuse que le séquençage.

Le principe est le suivant : les produits amplifiés à la suite d'une PCR (18S, COWP) vont être digérés par des enzymes de restriction. Selon les espèces de *Cryptosporidium*, les sites de restriction reconnus par les enzymes ne sont pas localisés au même endroit sur l'ADN amplifié. En analysant le profil des produits digérés sur gel d'agarose, la ou les espèces présentes peuvent être identifiées. La plupart des espèces infectant l'homme et le bétail sont connues et ont été étudiées en PCR-RFLP (ciblant l'ARN r 18S) ,Les enzymesde restrictions les plus utilisés sont les enzymes : AseI ou VspI, SspI, DdeI et MboII[90].

Comme nous l'avons vu précédemment, les bovins peuvent être infectés successivement par quatre espèces de *Cryptosporidium*, ce qui suggère la présence possible de plusieurs espèces au sein d'un même animal. Cette

technique présente donc un intérêt pour la mise en évidence d'infections multiples (deux voire trois espèces).

La PCR-RFLP présente ainsi un certain nombre d'avantages mais dépend du succès d'amplification de la cible 18S. Ceci signifie que si une espèce minoritaire est présente dans l'échantillon, son ADN sera amplifié de façon moins importante, et la « présence » de cette espèce ne sera pas visible sur gel d'agarose. Cette technique présente donc les mêmes limites de sensibilité que la PCR mais apporte des informations supplémentaires pour les échantillons fortement chargés dans lesquels les infections mixtes peuvent être présentes de façon équivalente[90].

VIII.4.3. 3.PCR quantitative ou PCR temps réel:

La PCR quantitative (PCR q) est de plus en plus utilisé pour l'étude de *Cryptosporidiumspp*. Cette technique présente plusieurs avantages comparée aux PCR conventionnelles. Elle est plus rapide, ne nécessite pas de séquençage ou de procédé RFLP pour la révélation et permet d'obtenir plusieurs informations simultanément. En effet, elle permet, selon les protocoles, une détection et quantification de ou des espèces de *Cryptosporidiumspp* en présence. De plus, cette technique est généralement réalisée en une étape (contrairement aux PCR nichées 18S et gp60), ce qui ne nécessite pas l'ouverture des tubes entre les deux étapes de PCR et /ou pour la révélation (pas d'électrophorèse), limitant ainsi considérablement les contaminations.

A l'heure actuelle il n'existe pas de protocole « standard » de PCR q pour la détection ou quantification de *Cryptosporidiumspp*.

Les premiers essais ont été réalisés dans le but de pouvoir différencier les principales espèces de *Cryptosporidiumspp* infectant l'homme. Différents protocoles ont donc été mis au point suivant deux techniques.

La première technique nécessite l'utilisation de substances s'intercalant dans le double brin d'ADN (tel que le SYBRgreen), révélées ensuite pour pouvoir visualiser la quantité d'ADN cible présent dans l'échantillon. L'inconvénient de cette technique réside dans le fait que ces substances ne s'intercalent pas spécifiquement sur l'ADN cible mais sur la totalité de l'ADN présent et amplifié. Il est donc nécessaire de réaliser cette PCR q avec des amorces très spécifiques du gène cible.

La seconde technique fait intervenir des sondes (Taqman, beacon…) ciblant l'ADN d'intérêt. Cette technique présente un intérêt supplémentaire car il est possible de travailler avec des sondes ciblant différentes espèces de *Cryptosporidiumspp* .

Selon les laboratoires, les sondes utilisées ne sont pas nécessairement les mêmes en fonction des gènes ciblés .

En effet, plusieurs gènes cibles peuvent être utilisés: ARN r 18S, HSP70, β tubuline…. Parmi ceux-ci, le gène codant pour la petite sous unité de l'ARN ribosomal 18S a été décrit comme étant la meilleure séquence cible. Les protocoles utilisant cette cible, du fait de son grand nombre de copies, permettraient une détection du parasite dans des échantillons peu chargés .

Cette technique est considérée comme plus sensible que la PCR nichée 18S. Une étude de comparaison de techniques de détection des oocystes de *Cryptosporidiumspp*, qui montré que les sensibilités et spécificités des techniques (microscopie, nested PCR, PCR q) variaient en fonction de l'âge des animaux et du niveau d'excrétion. Cette étude a également rapporté l'intérêt de la technique de PCR q pour la détection du parasite à la fois chez des animaux malades et chez des animaux asymptomatiques (normalement peu infectés).

Cependant, comme pour la PCR conventionnelle, le problème de la présence dans certains échantillons de substances inhibitrices « non levées » par

les techniques d'extraction d'ADN reste le même et peut jouer sur la sensibilité de la PCR q. Pour cela, il est recommandé d'inclure des contrôles positifs permettant d'écarter ou non la présence d'inhibiteurs au sein des échantillons à tester.

Actuellement, la plupart des études de PCR q sont réalisées avec des sondes ciblant l'ADN r 18S des deux principales espèces qui infectent l'homme (*C. parvum* et *C. hominis*). Peu d'études sur l'identification des autres espèces de *Cryptosporidium*spp ont été faites, celles-ci sont généralement identifiées par PCR-RFLP même si récemment Hadfield et Chalmers ont mis au point une PCR q pour détecter *C. cuniculus*. De la même façon que pour la technique de PCR-RFLP (Reed et al., 2002), il a été montré que dans un échantillon qui contenait plus d'une espèce de *Cryptosporidiumspp*, l'espèce la plus abondante était mieux ciblée par la sonde que l'espèce minoritaire. Ceci peut présenter un inconvénient, en particulier pour les échantillons provenant de l'environnement, où il a été observé que plusieurs espèces de *Cryptosporidiumspp* pouvaient être retrouvées au sein du même échantillon [119].

La PCR quantitative est donc un outil très puissant qui permet à la fois la quantification et l'identification de/des espèces de *Cryptosporidiumspp*.

VIII.4.3. 4.PCR gp60:

Au sein de certaines espèces telles que *C. parvum* et *C. hominis*, des sous-types ont été identifiés. L'identification de ceux-ci, permet entre autres, de pouvoir apprécier le potentiel zoonotique de certains isolats

Une des cibles utilisées pour le sous-typage est le gène codant pour la glycoprotéine de surface, gp60. Cette glycoprotéine est localisée à la surface des sporozoïtes et mérozoïtes (stades invasifs). Elle représente également une cible des anticorps neutralisants présents chez l'homme .

Une partie de ce gène contient des répétitions micro satellites. Cette cible est largement utilisée pour le sous typage de *C. parvum* et *C. hominis* chez l'homme et est également utilisée dans la majorité des études d'épidémiologie moléculaire conduites chez les ruminants, dans le but d'accéder aux différents sous-types de *C. parvum* excrétés (sous types zoonotiques)

Le motif répété en position 5' du gène codant pour la gp60 correspond à un motif codant pour une sérine : TCA/TCG/TCT. Le nombre de répétitions diffère d'un sous-type à l'autre. En plus de ces variations dans le nombre de tri-nucléotides répétés, il existe des différences dans des régions non répétées du gène permettant de catégoriser *C. parvum* et *C. hominis* en différentes familles. Les familles : Ia, Ib, Id et Ie de *C. hominis*, puis, IIa, IIc, IId et IIe de *C. parvum* sont les plus communes. Les membres des différentes familles diffèrent les uns des autres par leurs séquences primaires (séquences de nucléotides) et les sous-types d'une famille, par le nombre de tri nucléotide répété TCA, TCG et TCT au sein du gène de la gp60.

Une nomenclature a été établie pour identifier les différents sous-types de *C. parvum* et *C. hominis*. Ils sont nommés selon leur famille (Ia, Ib… ou IIa, IIb..) et le nombre de chaque tri-nucléotides répétés. Pour chaque sous type la désignation commence par la famille, suivi du nombre de répétition du motif TCA (désigné par la lettre A), du nombre de répétition du motif TCG (désigné par la lettre G) puis du nombre de répétition du motif TCT (représenté par la lettre T). Pour certains sous-types, en particulier ceux appartenant à la famille IIa, le motif ACATCA peut être présent à la suite des motifs tri-nucleotidiques répétés.

Ce motif est désigné par la lettre R. Le sous-type majoritairement retrouvé chez l'homme et le veau, IIaA15G2R1 par exemple, appartient à la famille IIa de *C. parvum*, possède 15 répétitions du motif TCA, 2 répétitions du motif TCG et une du motif ACATCA. Parfois, en plus de ces variations, certains sous types possédant le même nombre de répétitions TCA, TCG, TCT, peuvent différer d'un

ou deux nucléotides présents dans les régions non répétées de la séquence. Ceux-ci sont répertoriés et désignés par des lettres a, b, c, d ajouté au nom du sous-type .

Le marqueur gp60 est considéré comme l'un des marqueurs les plus polymorphiques présents dans le génome de *Cryptosporidium*. Il est essentiellement utilisé pour le typage de *C. parvum* et *C. hominis* mais peut l'être aussi sur d'autres espèces de *Cryptosporidium* telle que *C. meleagridis*. Tout comme pour la PCR 18S, les protocoles d'amplification et les amorces utilisées peuvent être différents selon les études.

La sensibilité de la PCR gp60 est considérée comme moins bonne que celle de la PCR 18S car il n'existe qu'une seule copie du gène codant pour la gp60 dans les génomes de *C. parvum* et *C. hominis*, mais elle présente bien sûr l'intérêt de pouvoir accéder aux sous-types excrétés[124].

VIII.4.4. Identification des sous-types et étude de la diversité génétique de *Cryptosporidiumspp*:

Différents marqueurs sont utilisés dans la littérature pour identifier les variations intraespèces existantes au sein de *C. parvum* et *C. hominis*. La majorité des cibles utilisées sont des marqueurs micro et mini. Ces marqueurs correspondent à des séquences répétées d'ADN en tandem d'1 à 4 paires de base (microsatellites) ou plus (mini-satellites). Les variations génétiques au sein de ces marqueurs se traduisent par des variations dans le nombre de tandems répétés, ce qui permet une identification des différents sous types en présence après migration sur gel de polyacrylamide, par électrophorèse capillaire ou bien par séquençage. Il arrive parfois que les variations ne se traduisent pas par une différence du nombre de tandems répétés mais au niveau d'un SNP (Single-

nucléotide polymorphism) correspondant à une variation d'une seule paire de base du génome entre individus d'une même espèce. Ces variations ne sont observables qu'après séquençage et analyse de séquence. Le séquençage apporte donc des informations supplémentaires lorsque l'on veut comparer les régions variables du génome des différents sous-types d'une espèce. Enfin, ces marqueurs sont utilisés pour réaliser des études de génétique des populations et étudier les dynamiques de transmission de la maladie, ainsi que les sources de contamination en cas d'épidémie de *cryptosporidiose*[108].

VIII.5.Diagnostic histologique:

L'examen histologique

peut en revanche mettre en évidence la présence de différents stades du parasite dans les échantillons observés, ceci est illustré par la (Figure 16). Dans un premier temps, les tissus sont fixés pour éviter l'autolyse. Les échantillons sont ensuite colorés à l'aide d'hématoxyline et d'éosine ou par la coloration de Giemsa. Néanmoins, l'utilisation d'un microscope électronique est souvent nécessaire pour confirmer l'identité des micro-organismes présents. Ces techniques s'avèrent peu sensibles en raison de la taille des échantillons et de la distribution irrégulière du parasite dans les tissus prélevés. Etant également coûteuses et chronophages, elles ne sont pas recommandées pour un diagnostic de routine [109].

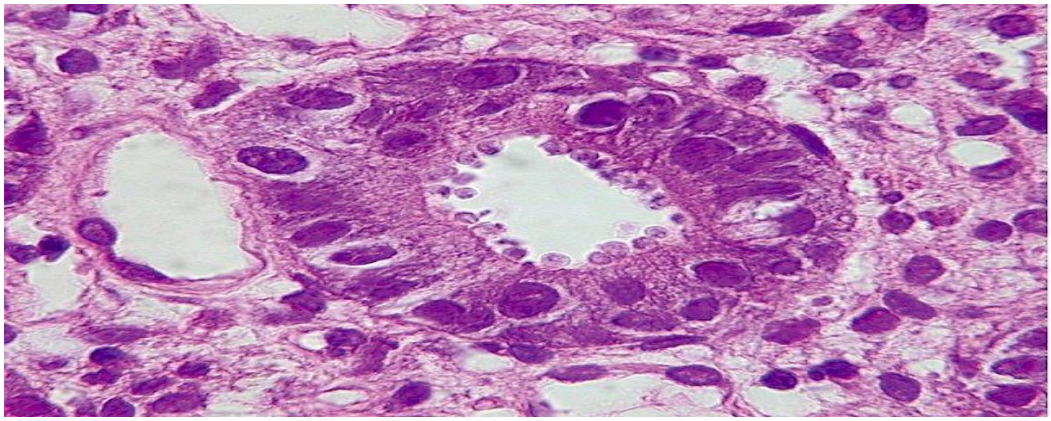


Figure16 : Coupe histologique colorée à l'Hémalin-Eosine-Safran d'un intestin Parasité par*Cryptosporidiumparvum*(109)

IX.TRAITEMENT:

A ce jour aucun médicament ne s'est montré efficace contre la *cryptosporidiose* aussi bien chez l'homme que chez l'animal, cela s'explique par la double membrane recouvrant le parasite, qui le protège des médicaments libres dans l'intestin ·

L'efficacité d'environ 200 molécules a été testée vis-à-vis de *Cryptosporidiumspp* toutes espèces hôtes confondues et jusqu'à présent, la plupart se sont révélées être inefficaces. Comme nous le verrons par la suite, certaines substances parviendraient à réduire la multiplication du parasite mais à des doses toxiques. De même, quelques substances actives chez l'animal restent sans résultats concluants chez l'homme (49).

IX.1. Traitement curatif :

IX.1.1.Chez les patients immunodéprimés:

Aucune thérapeutique curative n'a fait la preuve de sa constante efficacité tant sur le plan clinique que parasitologique. À notre connaissance, il n'existe pas de consensus sur les modalités de traitement de la *cryptosporidiose*. Chez les

patients infectés par le VIH, l'approche la plus efficace est la trithérapie antirétrovirale qui permet une reconstitution immunitaire et a un effet direct sur le parasite. Les traitements proposés dans l'infection à *Cryptosporidium* restent sans efficacité réelle[139].

❖ **La spiramycine**

semblerait avoir une efficacité, mais celle-ci est inconstante.

La paromomycinepermet l'amélioration des symptômes avec 100 mg/kg de poids corporel, mais l'arrêt du traitement est suivi de rechutes[50].

❖ **L'azidothymidine(AZT):**

s'est montrée efficace cliniquement et biologiquement dans le traitement de la *cryptosporidiose* chez le sidéen [57].

❖ **La paramomycine :**

La paromomycine est un antibiotique de la famille des aminosides. La forme orale de ce médicament est disponible aux USA depuis quelques années pour le traitement contre l'amibiase. Pour le traitement de la *cryptosporidiose*, une étude a montré que certains malades avaient éliminé totalement le parasite suite à l'administration de cette substance, alors que pour d'autres, une rechute a été observée après une amélioration des symptômes. Cette substance présenterait tout de même une certaine toxicité à partir d'un certain dosage. Ce traitement permet une amélioration des symptômes, mais l'arrêt de la paromomycine est souvent suivi d'une reprise évolutive de la *cryptosporidiose*. La colonisation des voies biliaires et de la partie profonde des cryptes intestinales, qui sont inaccessibles à la paromomycine, semble constituer unréservoir de parasites responsable de ces rechutes après traitement, soulignant l'importance d'un diagnostic précoce de la colonisation

intestinale par *C parvum*, avant la dissémination du parasite à des sites inaccessibles au traitement[73].

❖ **Azithromycine:**

L'azithromycine est un antibiotique appartenant à la famille des macrolides, premier représentant de la classe des azalides. Comme celui des autres macrolides, l'effet antibactérien de l'azithromycine est imputé à une liaison réversible à la sous-unité 50S des ribosomes bactériens, ce qui entraîne une inhibition de la synthèse protéique. De nombreuses tentatives de traitement de la *cryptosporidiose* à *C. parvum* par azithromycine, seule ou en association, sont rapportées dans la littérature, mais seuls deux essais cliniques ont été menés chez l'homme.

L'association paromomycine +azithromycine a également été évaluée au cours d'un essai clinique ouvert chez des patients VIH+ atteints de *cryptosporidiose* chronique, montrant une efficacité partielle[128].

❖ **Le nitazoxanide :**

Le nitazoxanide est un acétate de N-salicylamide qui possède des propriétés antibactériennes et antiparasitaires. Il agit par inhibition directe du pyruvate ferredoxine oxydoréductase, enzyme de la chaîne mitochondriale indispensable au métabolisme énergétique. Il est cliniquement efficace contre les protozoaires et les helminthes intestinaux courants, résistants ou non aux autres traitements [132].

Les recherches actuelles portent sur le criblage des molécules actives à l'aide de modèles in vitro ou d'animaux de laboratoire infectés, sur la caractérisation d'antigènes induisant une immunité protectrice exploitable dans le cadre d'immunothérapie passive (utilisation de colostrum de bovin, d'interleukines inhibiteurs de l'ornithine décarboxylase) [58].

❖ **Autres traitements :**

D'autres molécules ont été proposées pour traiter la *cryptosporidiose* :

✓ **Le létrazuril**, un antiprotozoaire de la famille des triazines, a montré une¬ efficacité modérée chez des patients VIH+ au cours de deux essais cliniques. De la même famille, le diclazuril a également été testé chez l'homme mais sans résultat probant.

✓ **La sinéfungine, le lasalocide et le métronidazole** ont montré une certaine efficacité sur des modèles d'animaux immunodéprimés atteints de *cryptosporidiose* mais n'ont jamais été évalués chez l'homme. Enfin, l'immunothérapie passive avec l'utilisation d'anticorps monoclonaux a vu ses premiers essais réalisés avec succès chez la souris, mais cette thérapie, tout comme la vaccination, ne représente pour l'instant qu'une voie d'espoir.Dans tous les cas, si cela est possible, c'est la restauration de l'immunité qui doit être privilégiée. La *cryptosporidiose* demeure une maladie potentiellement grave chez les personnes fragilisées. Les traitements spécifiques doivent encore faire la prevue de leur efficacité et dans l'attente d'études complémentaires, l'observance des mesures de prévention reste le meilleur moyen de lutter contre la propagation de cette parasitose cosmopolite[84].

IX.1.2.Chez les patients immuncompétents:

Chez les patients immunocompétents, la *cryptosporidiose* guérit spontanément en moins de 2 semaines. Le nitazoxanide à la dose de 200 mg à 1 g par jour selon l'âge pendant 3 jours est efficace dans environ 80 % des cas et accélère la guérison clinique et parasitologique. Le nitazoxanide est approuvé aux États-Unis dans le traitement de la *cryptosporidiose* chez l'enfant. [101]

IX. 2. Traitement symptomatique :

Dans tous les cas un traitement symptomatique peut être nécessaire. Il repose sur la rééquilibration hydroélectrolytique et nutritionnelle parfois par voie intraveineuse[96].

Il comprend :

- ✓ L'octréotide, un analogue de la somatostatine, peut avoir une efficacité sur le volume et la fréquence des selles, mais est sans effet sur l'infection et l'élimination du parasite. Cette molécule est disponible sous forme injectable sous le nom de Sandostatine® après prescription initiale hospitalière.
- ✓ la rééquilibration hydro électrolytique et nutritionnelle par voie parentérale ou entérale ;
- ✓ l'utilisation d'anti diarrhéiques tels que le loperamide, l'acetorphane ou les morphiniques
- ✓ Le traitement associé par la trithérapie antirétrovirale permet une reconstitution de l'immunité donc une baisse des signes cliniques chez l'immunodéprimé.

X. Prophylaxie[70] :

La prophylaxie est primordiale dans la maîtrise de cette affection. Etant donné la transmission féco-orale de la *cryptosporidiose*, le respect des mesures d'hygiène devra être rigoureux, en particulier chez les personnes en contact avec les malades (hôpitaux) et les animaux infectés (éleveurs, vétérinaires).

X.1.Mesures collectives :

Le risque pour la collectivité est principalement lié à la transmission hydrique du parasite. Sa prévention nécessite une optimisation de la chaîne de traitement et distribution d'eau[71] :

- traitement des effluents d'élevage .
- maîtrise des rejets de stations d'épuration (eaux usées ; boues résiduaires) .
- caractérisation du niveau de contamination des ressources en eau .
- mise en place de périmètres de protection autour des ressources .
- adaptation des procédures de traitement au niveau de contamination.

En cas d'épidémie, une collaboration étroite est nécessaire entre les autorités de santé, les collectivités territoriales, les industriels de l'eau et les cliniciens et microbiologistes en charge des patients.L'identification rapide et la caractérisation génotypique du ou des micro-organismes responsables facilitent l'enquête épidémiologique. Cette réactivité est essentielle pour prendre des mesures adaptées :

- identification de l'origine de l'épidémie et traitement de la cause .
- information de la population .
- distribution d'eau.

X.2.Mesures individuelles :

Prévention individuelle [54]

Des mesures d'hygiène sont indispensables dans les collectivités, les professions à risque (hôpitaux, crèches, vétérinaires, éleveurs) et pour les patients immunodéprimés. De même les voyageurs dans des régions à bas

niveau d'hygiène devront suivre les recommandations de prévention des diarrhées infectieuses. En cas de séjour prolongé dans des conditions précaires, la désinfection chimique à base de chlore ou d'ions argentiques est probablement inefficace. La filtration sur résines penta-iodées est insuffisante pour supprimer le pouvoir infectieux des oocystes. Compte tenu de la taille des oocystes (5 µm) la filtration sur des filtres de céramique de porosité 0,2 µm (filtres Katadyn par exemple) est une option envisageable. (54)

XI. Désinfection (55)

Beaucoup de désinfectants comme l'eau de Javel sont inefficaces vis-à-vis des oocystes dans leurs conditions habituelles de temps de contact et de concentration. Le tableau ci après présente quelques procédures d'inactivation physique efficaces.

Procédures d'inactivation physique actives sur les oocystes de *Cryptosporidium* :

- Température >72,4 °C pendant 1 minute
- Température 64,2 °C pendant 5 minutes
- Pasteurisation Congélation à - 70 °C pendant 1 heure
- Dessiccation

Conclusion

La *cryptosporidiose* est une maladie due à un parasite protozoaire Apicomplexa capable d'infecter un très grand nombre d'espèces. Sa répartition géographique est cosmopolite aussi bien chez les Mammifères(les bovins, les caprins….) que chez les Reptiles, les Oiseaux ou les Poissons.

Cryptospridium est à l'origine d'un syndrome gastro entéritique et son importance est primordiale chez les nouveau-nés bien que toutes les classes d'âge puissent être infectées par le parasite. La sévérité de la maladie est fonction du statut immunitaire de l'individu.

Ce parasite se multiplie dans l'intestin. Lors de diarrhées, un animal malade émet des œufs, appelés oocystes, qui sont très résistants dans le milieu extérieur. Les oocystes peuvent survivre plusieurs années dans la litière et sur le matériel.

La résistance du parasite dans le milieu extérieur, l'absence de traitement efficace spécifique et l'absence de vaccin rendent les mesures de lutte sanitaire primordiales dans le contrôle de cette maladie. Toutefois, compte tenu du nombre important d'oocystes émis par les veaux diarrhéiques infestés et par les porteurs sains, les exploitations où ce type de problème est déclaré, des mesures zootechniques, sanitaires et hygiéniques strictes doivent accompagner la saison de vêlage, l'allaitement et du sevrage des veaux.

Les pertes économiques peuvent être directes par la mortalité élevée qui peut survenir dans certains élevages mais également indirectes via les frais engagés (alimentation, médicaments, retard de croissance…).

Les mesures de désinfection citées dans la littérature sont difficilement applicables. La prophylaxie sanitaire semble être la meilleure solution pour limiter la contamination et la propagation de la maladie.

Référence

(1)_Tyzzer, E.E., (1907).

A sporozoan found in the peptic glands of the common mouse .Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 5:P.12-13.

(2)_ Tyzzer, E.E., (1910). An extracellulair coccidium, *cryptosporidiummuris* (gen.et sp.nov), of the gastric gland of the communmouse.J.Med.Res. Vol.23, P.487-509.

(03)_Soave R. Protozooses et helminthiases, *cryptosporidiose* Chapitre 379, p : 1910.2eme édition. 2006.

(4)_ Tyzzer E.E., (1912). *Cryptosporidium* parvum (sp.nov.), a coccidiumfound in the small intestine of the common mouse .Arch.Protistenkd. Vol. 26, P. 394-412.

(5)_ Triffit, M.J., (1925). Observation on two species of coccodian parasites in snakes Protozool. Vol. 1, P. 19-26.

(6)_ Salvin,D., (1955).*cryptosporidium* meleagridis (sp.nov.). J Comp Pathol65, 262-266.

(07)_Salvin,D., (1955).*cryptosporidium* meleagridis (sp.nov.). J Comp Pathol65, 262-266

(08)_Slavin, D., 1955. *Cryptosporidium* meleagridis (sp.nov.) J. Comp. Pathol. 65, 262-266

(09)_ ALLEN A. V., RIDLEY D. S. Further observations on the formol-ether concentration technic for fecal parasites. J. Clin. Pathol. 1970; 23, 545-546.

(10)_ Nime, F.A., Buerk, J.D., Page, D.L., Holscher, M.A., Yardley, J.H., (1976).

Acute enterocolitis in a human being infected with the protozoan *Cryptosporidium*. Gastroenterology 70, 592-598.

(11)_ Mourin M.et al., (1978).Neonatalcolfdiarrhea: pathology and microbiology of spontaneouin cases in dairy herds and incidence of the enteropathogens implicated as ethiologicalagents. porc .Second intern. Symposium on neonatal diarrhes, university of Saskatchewan, Canada, P, 347-370.

(12)_ POHLENZ J., CHEVILLE H.W., BEMRICK W. J. *Cryptosporidiosis* as probable factor in neonatal diarrhea of calves. J. Am. Vet. Med. Assoc. 1978; 172: 452-457.

(13)_Bird, R.G., Smith, M.D., (1980). *Cryptosporidiosis* inman: parasite life cycle and fine structural pathology. J Pathol 132, 217-233.

(14)ANDERSON B. C. *Cryptosporidiosis* in Idaho lambs: natural and experimental infections. J. Am. Vet. Med. Assoc.1982; 181, 151-153.

(15) Sanford, S. E., Josephson, G. K. A. (1982). Bovine *Cryptosporidiosis*: Clinical and Pathological Findings in Forty-two Scouring Neonatal Calves. The Canadian Veterinary Journal,

23(12), 343 -347

(16) Tzipori, S., Hutchinson G., Angus, K.W., 1982. Effect of disinfectants on survival of *Cryptosporidium* oocysts. Vet. Rec. 111, 414-415.

(17) BAXBY D., HAR C. A., TAYLOR, C. Human cryptosporidiosis: a possible case of hospital cross infection. Br. Med.1983; 287: 1760-1761.

(18) Heine, J., Pohlenz, J., Moon, H.W., Woode, G.N., 1984. Enteric lesions and diarrhea in gnotobiotic calves mono-infected with *Cryptosporidium* Species. J. Infect. Dis.150, 768-775.

(19) Eloit, M., Koutchoukali, M.A., 1984. Sondage dans une population animale: estimation du taux d'infection des cheptels. Epidemiol. Santé. Anim. n°6, 61-74.

(20)_ Hart, C.A., Baxby, D., Blundell, N., 1984. Gastroenteritis due to *Cryptosporidium*: a prospective survey in a children's hospital. J. Infect. 9, 264-270.

(21) Heine, J., Pohlenz, J., Moon, H.W., Woode, G.N., 1984. Enteric lesions and diarrhea in gnotobiotic calves mono-infected with *Cryptosporidium* Species. J. Infect. Dis.150, 768-775.

(22) Current, W.L., Haynes, T.B., 1984. Complete development of *Cryptosporidium* in cell culture. Science. 224, 603-605.

(23)_ ARNAUD-BATTANDIER F. *Cryptosporidiose*, isosporose, lambliase au cours des déficits immunitaires Arch. Fr. Pediatr., 1985, 42: 959-63.

(24)_Current WL. *Cryptosporidiosis*. J.Arn.Vet.Med.Assoc. 1985; 187(12): 1334-8. (110)_ BonninA., Dalle F., Valot S. , Dautin G., Di Palma M. Infections à *cryptosporidies* et à cyclospora EMC, maladies infectieuses, 8-501-A-10,2006

(25)KOCH, KL., PHILLIPS, DJ., ABER, RC. et al.*Cryptosporidiosis* in hospital personnel: evidence for person-to-person transmission. Ann. Intern. Med. 1985 ; 102: 593-596.

(26)_ Ungar, B.L., Soave, R., Fayer, R., Nash, T.E., 1986. Enzyme immunoassay detection of immunoglobulin M and G antibodies to *Cryptosporidium* in immunocompetent and immunocompromised persons. J. Infect. Dis. 153, 570-578

(27)_ALPERT, G., BELL, L. M., KIRKPATRICK, C. E. et al.

Outbreak of cryptosporidiosis in a daycare center. Pediatrics.1986; 77: 152-157.

(28)_Charmette et Boufassa, (1988):-*Cryptosporidiose* : une maladie animale et humaine cosmopolite. Deuxiéme edition et Klesuis P.H., Haynes T.B. &Malo L.K., (1986): Infectivity of *Cryptosporidium* sp .Isolated from wild mice for calves and mice .J.Am. Vet.Assoc

(29)DUTOIT E., DEWITTE J.M., DEI-CAS E. et al. Méthode rapide pour la mise en évidence des oocystes de *Cryptosporidium* dans les selles. Le Biologiste, 1988, 22: 159-161.

(30)DUTOIT E., DEWITTE J.M., DEI-CAS E. et al. Méthode rapide pour la mise en évidence des oocystes de *Cryptosporidium* dans les selles. Le Biologiste, 1988, 22: 159-161.

(31) NWANYANWU O.C., BAIRD J. N., REEVE G. R. *Cryptosporidiosis* in a day-care center. Tex. Med.1989; 85: 40-43.

(32) Dubey J, P., Speer C.A., Fayer R., (1990), *Cryptosporidiosis* of man and animals, Boston: Raton ET Arbor, 199p.

(33)DITRICH O., PALKOVIC L., STERBA, J. First finding of *Cryptosporidium* baileyi in man. Parasitol. Res. 1991, 77: 44-47.

(34) Villacorta, I., Peeters, J.E., Vanopdenbosch, E., Ares-Mazas, E., Theys, H., 1991. Efficacy of halofuginone lactate against *C. parvum* in calves, Antimicrobs. Agents. Chemother. 35, 283-287.

(35) Ungar, B.L., Kao, T.C., Burris, J.A., Finkelman, F.D., 1991. *Cryptosporidium* infection in an adult mouse model. Independent roles for IFN-gamma and CD4+ T lymphocytes in protective immunity. J. Immunol. 147, 1014-1022

(36)_ Weber R, Bryan RT, Bishop HS, Wahlquist SP, Sullivan JJ, Juranek DD. Threshold of detection of *Cryptosporidium* oocysts in hurnan stool specimens: evidence for Ïow sensitivity of current diagnostic methods. J.Clin.Microbiol. 1991 ;29(7): 1323-7.

(37)_Naciri, M., 1992. La cryptosporidiose. Importance de la contamination de l'eau. INRA. Prod. Anim. 5, 319-327.

(38)_ Weber R, Bryan RT, Juranek DD. Improved stool concentration procedure for detection of *Cryptosporidiztrn* oocysts in fecal specimens. J.Clin.Microbiol. 1992;30(1 1):2869-73.

(39)ASSOUMOU A., KONE M., PENALI K. L. et al. *Cryptosporidiose* et VIH à Abidjan (Côte d'Ivoire). Bull. Soc. Path. Exot. 1993; 86: 85-86.

(40) Laurent, F., Kagnoff, M.F., Savidge, T.C., Naciri, M., Eckmann, L., 1993. Human intestinal epithelial cells respond to *Cryptosporidiumparvum* infection with increased prostaglandin H synthase 2 expression and prostaglandin E2 and F2alpha production. Infect. Immun. 66, 1787-1790.

(41) Chen, W., Harp, J.A., Harmsen, A.G., Havell, E.A., 1993 a. Gamma interferon functions in resistance to *Cryptosporidiumparvum* infection in severe combined immunodeficient mice. Infect. Immun. 61, 3548-3551

(42) Lorenzo-Lorenzo, M.J., Ares-Mazas, M.E., Villacorta-Martinez, de Maturana, I., Duran-Oreiro, D., 1993. Effect of ultraviolet disinfection of drinking water on the viability of *Cryptosporidium parvum* oocysts. J. Parasitol. 79, 67-70.

(43) Chen, W., Harp, J.A., Harmsen, A.G., Havell, E.A., 1993 a. Gamma interferon functions in resistance to *Cryptosporidiumparvum* infection in severe combined immunodeficient mice. Infect. Immun. 61, 3548-3551.

(44)_LAGRANGE. P. H., DEI-CAS E. Relations hôtes-pathogènes (II). In Encycl. Méd. Chir. Editions techniques. Maladies infectieuses, 8-001- B-15, 1994, 20p

(45)_Ortega. Mora, L.M, Wright SE. (1994) < Age related resistance in ovine *cryptosporidiosis*: patterns of infection and humoral immune response >. Infect Immun, 62:5003.9.

(46) Mac Kenzie, W. R., Hoxie, N .J.,Procotr , M. E., Gradus, M. S. Blair, K. A., Peterson, D.E., Kasmierczak, J.J., Adiss ,D ,G., Fox ,K. R.,Rose, J.B.,Davis,J.P., (1994). <A massive outbreak in Milwaukee of *cryptosporidium* infection transimittedthrought the public water supply. The new England > journal of medicine 331, P .161-167.

(47)_ Cozon, G., Biron, F., Jeannin, M., Cannella, D., Revillard, J.P., 1994. Secretory IgA antibodies to *Cryptosporidiumparvum* in AIDS patients with chronic *cryptosporidiosis*. J. Infect. Dis. 169, 696-699.

(48)_Naciri, M., Mancassola, R., Reperant, J.M., Canivez, O., Quinque, B., Yvoré, P., 1994. Treatment of experimental ovine *cryptosporidiosis* with ovine or bovine hyperimmune colostrums. Vet. Parasitol. 53, 173-190.

(49)_ Naciri, M., Mancassola, R., Reperant, J.M., Canivez, O., Quinque, B., Yvoré, P., 1994. Treatment of experimental ovine *cryptosporidiosis* with ovine or bovine hyperimmune colostrums. Vet. Parasitol. 53, 173-190.

(50)_ VERDON R., POLIANSKI J., GAUDEBOUT C. et al. Evaluation de l'activité anticryptosporidial curatif de la paromomycine dans un modèle de rats traités à la dexaméthasone. Antimicrob. Agents. Chemother.1994, juillet ; 38: 1681-1682.

(51)_O'DONOGHUE P. *Cryptosporidium* and *cryptosporidiosis* in man and animals. Int. J. Parasitol. 1995; 25: 139-195.

(52)_ Tanyüksel M, Gün H, Doganci L. Prevalence of *Cryptosporidiumsp* in patients with neoplasia and diarrhea. Scand J Infect Dis 1995 ; 27 : 69-70

(53)_ Tanyüksel M, Gün H, Doganci L. Prevalence of *Cryptosporidiumsp* in patients with neoplasia and diarrhea. Scand J Infect Dis 1995 ; 27 : 69-70

(54)_ Harp JA, Fayer R, Pesch BA, Jackson GJ . Effect of pasteurization on infectivity of *Cryptosporidiumparvum* oocysts in water and milk. Appl Environ Microbiol 1996 ; 62 : 2866-2868.

(55)_ Fayer R, Graczyk T, Cranfield MR, Trout JM. Gaseous disinfection of *Cryptosporidium* oocysts. Appl Environ Microbiol 1996 ; 62 : 3908-3909.

et. Med. 77, 109-121

(56)BONNIN A., DUBREMETZ JF., LOPEZ J. et al. Infections à *Cryptosporidies* et à Cyclospora. In Encycl. Méd. Chir. Elsevier. Paris : Maladies infectieuses, 1998, 9p.

(57)_ BONNIN A., DUBREMETZ JF., LOPEZ J. et al. Infections à *Cryptosporidies* et à Cyclospora. In Encycl. Méd. Chir. Elsevier. Paris : Maladies infectieuses, 1998, 9p.

(58)_ BONNIN A., DUBREMETZ JF., LOPEZ J. et al. Infections à *Cryptosporidies* et à Cyclospora. In Encycl. Méd. Chir. Elsevier. Paris : Maladies infectieuses, 1998, 9p.

(59)FAYER., GRACZYK TK. et al Survival of infectious *Cryptosporidiumparvum* oocysts in seawater and eastern oysters (Crassostrea virginica) in the Chesapeake Bay. Appl. Environ. Microbiol.1998 :64: 1070-1074.

(60) Laurent, F., Kagnoff, M.F., Savidge, T.C., Naciri, M., Eckmann, L., 1998. Human intestinal epithelial cells respond to *Cryptosporidiumparvum* infection with increased prostaglandin H synthase 2 expression and prostaglandin E2 and F2alpha production. Infect. Immun. 66, 1787-1790

(61)_ BONNIN A., DUBREMETZ JF., LOPEZ J. et al. Infections à *Cryptosporidies* et à Cyclospora. In Encycl. Méd. Chir. Elsevier. Paris : Maladies infectieuses, 1998, 9p.

(62) XIAO L., MORGAN U.M., LIMOR J. et al.

Genetic diversity within *Cryptosporidiumparvum* and related *Cryptosporidium* species. Appl. and EnvMicrobiol. 1999; 65: 3386-3391.

(63)MATHISON B. A., DITRICH O. His fate of *Cryptosporidium* oocysts ingested by dung beetles and their possible role in the dissemination of cryptosporidiosis. J. Parasitol.1999 ; 8: 678-681.

(64) Graaf D.C., Vanopdenbosch, E., Ortega-Mora, L. M., Abbassi, H., Peeters, J.E., 1999 a. A review of the importance of *cryptosporidiosis* in farm animals. Int. J. Parasitol. 29, 1269-1287.

Graaf D.C., Spano, F., Petry, F., Sagodira, S., Bonnin, A., 1999 b. Speculation on whether a vaccine against cryptosporidiosis is a reality or fantasy. Int. J. Parasitol. 29, 1289-1306.

(65) Bornay-Llinares, F.J., da Silva, A.J., Moura, I.N., Myjak, P., Pietkiewicz, H., Kruminis-Lozowska, W., Graczyk, T.K., Pieniazek, N.J., 1999. Identification of *Cryptosporidium* felis in a cow by morphologic and molecular methods. Appl. Environ. Microbiol. 65, 1455-1458.

(66) NaciriM; LZd y M.P Mancassola R., Poirier P., Chermette R (1999):<< role of *cryptosporidiumparvum* inneonatale diarrhea complex in suckling and dairy calves in France>>. Veterinary Parasitolgy.

(67) Navin, T.R., Weber, R., Vugia, D.J., Rimland, D., Roberts, J.M., Addiss, D.G., Visvesvara, G.S., Wahlquist, S.P., Hogan, S.E., Gallagher, L.E., Juranek, D.D., Schwartz, D.A., Wilcox, C.M., Stewart, J.M., Thompson, S.E 3rd, Bryan, R.T., 1999. Declining CD4+ T-lymphocyte counts are associated with increased risk of enteric parasitosis and chronic diarrhea: results of a 3-year longitudinal study. J. Acquir. Immun. Defic. Syndr. Hum. Retrovirol. 20, 154-159.

(68)_ De la Tribonniere X, Valette M, Alfandari S. Oral nitazoxanide and paromomycin inhalation for systemic *cryptosporidiosis* in a patient with AIDS.

Infection 1999 ; 27 : 232.

(69)_ Ortega-Mora, L.M., Requejo-Fernandez, J.A., Pilar-Izquierdo, M., Pereira- Bueno, J., 1999. Role of adult sheep in transmission of infection by *Cryptosporidium* parvum to lambs : confirmation of periparturient rise. Int. J. Parasitol. 29, 1261-1268.

(70)_ . de Graaf DC, Spano F, Petry F, Sagodira S, Bonnin A. Speculation on whether a vaccine against *cryptosporidiosis* is a reality or fantasy. Int J Parasitol 1999 ; 29 : 1289-306

(71)_ de Graaf DC, Spano F, Petry F, Sagodira S, Bonnin A. Speculation on whether a vaccine against *cryptosporidiosis* is a reality or fantasy. Int J Parasitol 1999 ; 29 : 1289-306.

(72)_ Dann, S.M., Okhuysen, P.C., Salameh, B.M., DuPont, H.L., Chappell, C.L., 2000. Fecal antibodies to *Cryptosporidium* parvum in healthy volunteers. Infect. Immun. 68, 5068-5074.

(73)_ Johnson, E.H., Windsor, J.J., Muirhead, D.E., King, G.J., Al-Busaidy, R., 2000. Confirmation of the prophylactic value of paromomycin in a natural outbreak of caprine cryptosporidiosis. Vet. Res. Commun. 24, 63-67

(74)BONNIN A., DAUTIN, G., DALLE F., et al. *Cryptosporidiose*: risque sanitaire individuel et collectif. Tome XVI. La lettre de l'infectiologie. Déc 2001

(75) Sonia Lacroix-Lamande., 2001. Rôle de l'interféron gamma dans la réponse immunitaire mucosale à l'infection par *cryptosporidiumparvum* chez la souris.

(76) Pollok, R.C., Farthing, M.J., Bajaj-Elliott, M., Sanderson, I.R., McDonald, V., 2001. Interferon gamma induces enterocyte resistance against infection by the intracellular pathogen *Cryptosporidiumparvum*. Gastroenterology. 120, 99-107.

(77)_ Pollok, R.C., Farthing, M.J., Bajaj-Elliott, M., Sanderson, I.R., McDonald, V., 2001. Interferon gamma induces enterocyte resistance against infection by the intracellular pathogen *Cryptosporidiumparvum*. Gastroenterology. 120, 99-107.

(78)_ Lindergard G, Wade SE, Schaaf S, Barwick RS, Mohammed NO. Detection of *Ciyptosporidiurn* oocysts in soil samples by enzyrne-linked immunoassay. Vet.Parasitol. 2001 ;94(3): 163-76.

(79) Chrtier, C., (2002), << La *cryptosporidiose* des petits ruminants, Le point vétérinaire Pathologie ovine et caprine>>, 118 .12

(80)ANOFEL. Parasitologie mycologie. 7 è éd Paris : C et R Format Utile, 2002. P : 128-160. (Collection Référence.)

(81)CLAVEL A., DOIZ. et al. House fly (Muscadomestica) as a transport vector of *Cryptosporidiumparvum*. FoliaParasitol.2002 ; 49: 163-164.

(82)ANOFEL Parasitologie mycologie. 7 è éd Paris : C et R Format Utile, 2002. P : 128-160. (Collection Référence.)

(83) Riggs, M.W., 2002. Recent advances in *cryptosporidiosis*: the immune response. Microbes. Infect. 4, 1067-1080.

(84)_ Riggs MW, Schaefer DA, Kapil SJ, Barley-Maloney L, Perryman LE. Efficacy of monoclonal antibodies against defined antigens for passive immunotherapy of chronic gastrointestinal *cryptosporidiosis*. Antimicrob Agents Chemother 2002 ; 46 : 275-82.

(85)_ ANOFE Parasitologie mycologie.

7 è éd Paris : C et R Format Utile, 2002. P : 128-160. (Collection Référence.)

Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens.Nat. Rev. Immunol., 3, 331-341.

(86)MOORE D.A.ATWILL E.R., KIRK J.H., BRAHMBHATT D., ALONSO L.H., HOUL, SINGER M.D., MILLER T.D., (2003),<>, Journal of the American Veterinary Medical Association, 223, 839-845.

(87)HARP J.A.*Cryptosporidium* and host resistance: historical perspective and some novel approaches. Anim. Health Res. Rev.2003, 4: 53-62.

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

(89)_ Ralston, B.J., McAllister, T.A., Olson, M.E., 2003. Prevalence and infection pattern of naturally acquired giardiasis and *cryptosporidiosis* in range beef calves and their dams. Vet. Parasitol. 114, 113-122.

(90)_ Nichols, R.A.., Campbell, B.M. Smith, H.V., 2003. Identification of *Cryptosporidiumspp*. oocysts in UK still natural mineral waters and drinking waters using a modified nested PCR-RFLP assay. Appl. Environ. Microbiol. 69, 4183–4189.

(91)_ CHALMERS R.M., SMITH R., ELWIN K. et al. Epidemiology of anthroponotic and zoonotic human *cryptosporidiosis* in England and Wale, 2004- 2006. Epidemiol. Infect., 2011, 139 :700-712

(92)DENG M., RUTHERFORD M.S., ABRAHAMSEN M.S.

Host intestinal epithelial response to *Cryptosporidiumparvum*. Adv. Drug Deliv. Rev.2004; 56: 869-884.

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

(94) Xiao, L., Fayer, R., Ryan, U., Upton, S J., 2004. *Cryptosporidium* taxonomy: recent advances and implications for public health. Clin. Microbiol. Rev. 17, 72-97.

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

(96)_ Deng M, Rutherford MS, Abrahamsen MS. The Host intestinal epithelial reponse to *Cryptosporidium* parvum. Adv Drug Deliver Rev 2004;56:869-84.

(97) Guyot, K., Ngouanesavanh, T., Dei-Cas, E., (2005). <Strategies for detecting pathogenic protists in water: the point on *Cryptosporidium*>. European Journal of water quality 36, 51-70.

(98)_ (Fayer, R., Santín, M., Xiao, L., 2005. *Cryptosporidium* bovis n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in cattle (Bos taurus). J. Parasitol. 91, 624-629.

(99) Kváč, M., Kouba, M., Vítovec, J., 2006. Age-related and housing-dependence of *Cryptosporidium* infection of calves from dairy and beef herds in South Bohemia, Czech Republic. Vet. Parasitol. 137, 202-209.

(100) Delafosse, A., Castro-Hermida, J.A., Baudry, C., Ares-Mazás, E., Chartier, C., 2006. Herd-level risk factors for *Cryptosporidium* infection in dairy-goat kids in western France. Prev. V

(101)_ BonninA., Dalle F., Valot S. , Dautin G., Di Palma M. Infections à cryptosporidies et à cyclospora EMC, maladies infectieuses, 8-501-A-10,2006

Exp. Parasitol.2010; 124: 36-46.

(102)_SMITH, V., ROSELY, A., NICHOLS, B. *Cryptosporidium*. Food. Dis.2007: 233-76.

(103)KARANIS P., KOURENTI C., SMITH H.Waterborne transmission of protozoan parasites: a wordwide review of outbreaks and lessons learnt. J. Water Health. 2007; 5: 1-38.

(104)_ 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. 145, 260-266.

(105)_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. 145, 260-266.

(106)_Tzipori,S, Widmer. G, (2008). A hundred-year retrospective on *cryptosporidiosis*. Trendsparasitol 24, 184-189.

(107)_ GUARINO A., ALBANO F., ASHKENAZI S., et al. Evidence-based guidelines for the management of acute gastroenteritis in children in Europe. J PediatrGastroenterolNutr.2008; 46(suppl2): S81-122.

(108)_ Jex, A.R., Smith, H.V., Monis, P.T., Campbell, B.E., Gasser, R.B., 2008. *Cryptosporidium* biotechnological advances in the detection, diagnosis and analysis of genetic variation. Biotech. Adv. 26, 304-317.

(109)_SMITH BP (2008).Large Animals Internal Midicine.4th edition Saint_louis:Mosbay Alsevier,MO, 340-357.

(110)YODER J.S., WALLACE R.M., COLLIER S.A. et al. *Cryptosporidiosis* surveillance-United States, 2009 MMWR. Surveill. Summ. 2012 ; 61: 1-12.

(111)_ Brook, E.J., Anthony Hart, C., French, N.P., Christley, R.M., 2009. Molecular epidemiology of *Cryptosporidium* subtypes in cattle in England. Vet. J. 179, 378-382. (117)_ Cacciò, S.M., Thompson, R.C., McLauchlin, J., Smith, H.V., 2005. Unravelling *Cryptosporidium* and Giardia epidemiology. Trends. Parasitol. 21, 430-437.

(112)_CHABASSE, C., DANIS, M., GUIGUEN, C. et al.

ANOFEL. Edition Elsevier. Paris: Masson, 2010. P: 30-33. ISBN 9782294745560.

(113)CHALMERS R.M., DAVID A. P.Mini review: Clinical *cryptosporidiosis.*

(114) Borad, A., Ward, H., 2010. Human immune responses in *cryptosporidiosis*. Future. Microbiol. 5, 507-519.

(115) Petry, F., Jakobi, V., Tessema, T.S., 2010. Host immune response to *Cryptosporidiumparvum* infection. Exp. Parasitol. 126, 304-309.

(116) Petry, F., Jakobi, V., Tessema, T.S., 2010. Host immune response to *Cryptosporidiumparvum* infection. Exp. Parasitol. 126, 304-309.

(117)_MAYNE D. J., RESSLER K. A., SMITH D. And al. A community outbreak of cryptosporidiosis in Sydney associated with a public swimming facility: a case-control study. Interdiscip. Perspect. Infect. Dis., 2011 ; 341065, 9.

(118)_ N.D., Symeoudakis, S., Papadopoulos, E., Lafi, SQ., Karatzias, H. 2012. Comparison of two techniques for diagnosis of *cryptosporidiosis* in diarrhoeic goat kids and lambs in Cyprus. Trop. Anim. Health. Prod. 44, 1561-1565.

(119)_ Hadfield, S.J., Chalmers, R.M., 2012. Detection and characterization of *Cryptosporidium* cuniculus by real-time PCR. Parasitol. Res. 111, 1385-1390.

(120)DAMIANI C., BALTHAZARD-ACCOU K., CLERVIL E. et al.

La *cryptosporidiose* en Haïti: étonnamment faible niveau de la diversité des espèces révélé par la caractérisation moléculaire des oocystes de *Cryptosporidium* de la surface de l'eau et des eaux souterraines. Parasite. 2013 ; 20 : 45.

(121) Cacciò, S.M., Sannella, A.R., Mariano, V., Valentini, S., Berti, F., Tosini, F., Pozio, E., 2013. A rare *Cryptosporidiumparvum* genotype associated with infection of lambs and zoonotic transmission in Italy. Vet. Parasitol.191, 128-131.

(122)_ FAYE B., DIENG T., TINE R .C. et al.*Cryptoporidiosis* in Senegalese children: prevalence study and use of ELISA serologic diagnosis. Bull. Soc. Pathol. Exot. 2013; 106.

(123)_ FAYE B., DIENG T., TINE R .C. et al. *Cryptoporidiosis* in Senegalese children: prevalence study and use of ELISA serologic diagnosis. Bull. Soc. Pathol. Exot. 2013; 106.

(124)_ Abal-Fabeiro, J.L., Maside, X., Bello, X., Llovo, J., Bartolome, C., 2013. Multilocus patterns of genetic variation across *Cryptosporidium* species suggest balancing selection at the gp60 locus. Mol. Ecol. 22, 4723- 4732.

(125)_ Cours protozooses (Consulté le 7 Juillet 2014) .

<http://www.uvp5.univ-paris5.fr/>

(126)_*Cryptosporidiumparvum* [Consulté le 18 Juillet 2014] Disponible sur

Disponible sur http:// www. Atlas.or.kr.

(127)_*Cryptosporidiumparvum* [Consulté le 15 Juillet 2014]

http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/ImageLibrary/Cryptosporidiosisil.htm

(128)_ GRACZYK T.K., CRANFIELD M.R. et al Viability and infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocysts are retained upon intestinal passage through a refractory avianhost.

(129)_NOZAIS JP, DATRY A., DANIS M.

Traité de parasitologie : *cryptosporidioses*, coccidioses et blastocystose ; chapitre 18 ; p : 287-289.2014. Edition Pradel. Paris.

(130) SPONSELLER, J. K., GRIFFITHS, J. K., TZIPORI S.

The evolution of respiratory *Cryptosporidiosis*: evidence for transmission by inhalation. Clin. Microbiol. Rev.2014 ; 27: 575-86.

(131)_ ARROWOOD M., EBERHARD M., GABRIELLI A.

Cryptosporidiose. GLOBE (Global Link for Online Biomedical Expertise) [Enligne]. 2010 (Consulté le 2 Septembre 2014)

<http://www.globe-network.org/>

(132)_ ALI S., MUMAR S., KALAM K., RAJA K. et al. Prevalence, clinical presentation and treatment outcome of *cryptosporidiosis* in immunocompetent adult patients presenting with acute diarrhea. J. Pak. Med. Assoc. 2014; 64, 613-618.

(133)ALI S., MUMAR S., KALAM K., RAJA K. et al. Prevalence, clinical presentation and treatment outcome of *cryptosporidiosis* in immunocompetent adult patients presenting with acute diarrhea. J. Pak. Med. Assoc. 2014; 64, 613-618

(134)GRACZYK T.K., CRANFIELD M.R. et al Viability and infectivity of *Cryptosporidiumparvum* oocysts are retained upon intestinal passage through a refractory avianhost.

(135)*Cryptosporidiumparvum* [Consulté le 15 Juillet 2014]

http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/ImageLibrary/Cryptosporidiosisil.htm .

(136) Valigurova, A., Jirku, M., Koudela,B., Gelnar, M., Modry, D., Slapeta, J., 2014. *Cryptosporidia* : epicellular parasites embraced by the host cell membrane. Int. J. Parasitol. 38, 913-922.

(137)_HEALTHLINKBC [En ligne] La cryptosporidiose Cryptosporidium Infection, British Columbia, 2014. (Consulté le 07 octobre 2014) .

http://www.healthlinkbc.ca/.

(138)_ (Consulté le 08/08/14)

<mhttp://sante-medecine.journaldesfemmes.com/faq/38764-*cryptosporidiose*-chez-l-homme-et-le-veau-definition>.

(139)_ XIAO L., SING A., LIMOR J., GRACZYK, T.K., GRADUS S & LAL A.A.. Molecular charactrisation of *Cryptosporidium* oocysts in samples of raw suerface water and wastewater. Appl. Environ. Microbiol., 67, 1091–1101.

(140)_HEALTHLINKBC [En ligne] La *cryptosporidiose**Cryptosporidium* Infection, British Columbia, 2014. (Consulté le 07 octobre 2014).