MINISTERE DEL'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHESCIENTIFIQUE

UNIVERSITE YAHIA FARES DE MEDEA

FACULTE DE SCIANCE

Mémoire de Fin d'Etudes

En vu de l'obtention de diplôme de Master

En Biologie

Spécialité: Immunologie et Maladies infectieuse

Thème:

La cryptosporidiose des caprins (Etude histologique)

Présenté par:

BENLARIBI SAIDA **NEBIH SALAH**

Devant le jury :

Encadreur : BENADJI M.A	**MAA**	**SNV Médéa**
Examinateur : SALHI O	**MCA**	**ISV Blida**
Examinateur : BACHENE M.S	**MCA**	**SNV Médéa**

Année universitaire : 2021-2022


بسم الله الرحمن الرحيم





Dédicace

Avant tout, nous remercions « **Allah** » le tout puissant qui nous a donnée autant de courage, de volonté, de santé et de patience durant nos année d'études et surtout pour réaliser ce modeste travail.

- Je dédie ce modeste travail a mon **chère père** qui m'a soutenu moralement au cours de mes études et pour ces conseils.
- A ma **chère mère** qui m'a toujours entourée d'amour.
- A mes frères, **Nour El Islam**, **Youcef**, et ma sœur **Maroua**.
- A touts mes amis de **promo 2020/2021**, surtout **Khaled ToubalSeghir**, qui m'ont soutenue moralement au coures de mes études.
- A mon binôme **Benlaribi Saida**.
- A tout ce qui ont participé dans la réalisation de ce travail de prés ou de loin.
- A toute la famille **Nebih**.
- NEBIH Salah

Résumé :

La cryptosporidiose est une maladie parasitaire à répartition mondiale. Elle est causée par un parasite nommé *Cryptosoridiumsp*; qui occasionne une diarrhée liquide et profuse. Les conditions d'apparition de la maladie sont mal connues .Les caprins‹ et particulièrement les jeunes sont considérés comme l'espèce la plus sensible avec des fréquences accrues de morbidité et de mortalité.

Notre étude vise à comprendre l'épidémiologie de la cryptosporidiose et l'évaluation de la prévalence de cette parasitose chez les caprins dans la région de BIRINE la WILAYA de DJELFA.

L'étude a portée sur 09 prélèvements de l'intestin (biopsie) des caprins de différents âges (à 1 de 4 ans). Les prélèvements ont été récoltés de l'abattoir. La méthode de diagnostic qui a été utilisées pour la mise en évidence de *Cryptosporidiumsp*‹c'est la technique de coupe histologique.

Le taux de prévalence enregistré révèle que cette maladie‹ souvent mal diagnostiquée‹ est très répandue et des études sur des échantillons plus importants doivent être entreprises.

Mots clés : Cryptosporidiose,*Cryptosporidiumsp*‹ Caprins‹ Prévalence‹ Djelfa, histologie.

Summary:

Cryptosporidiosisis a parasiticdiseasewithworldwide distribution،itiscaused by parasite called*crytosporiduimsp*. Wich causes liquid and profuse diarrhea. The conditions of the onset of the disease are poorlyunderstood. thegoats، and especiallyyoung are considered the most sensitive species،withincreasedfrequencies of morbidity and mortality.

Our stydy aims to understand the epidemiologiy of cryptosporidiosis and the evaluation of the prevalence of this parasitosis in goats in the region of BIRINE state of DJELFA

The study included 09 intestine samples (biopsies) from goatsof different ages (1 to 4 years). The samples were collected from the abattoir. The diagnostic method used for the detection of Cryptosporidium sp is the histological section technique.

The registered prevalence rate shows that this disease، often poorly diagnosed، is widespread and studies on larger samples have to be undertaken.

Key words: Cryptosporidiose, Cryptosporidiumsp،Caprins, prevalence ،Djelfa .

ملخص :

كريبتوسبوريديوس هو مرض طفيلي ينتشر في جميع أنحاء العالم. سببه هو الطفيلي المعروف باسم كريبتوسبوريديوم والذي يسبب اسهال شديد.

شروط ظهور المرض غير معروفة بشكل جيد حيث يعتبر الماعز وخاصة الصغار النوع الأكثر حساسية للمرض بنسبة وفيات عالية.

تهدف دراستنا إلى فهم هدا الوباء وتقييم انتشار هذا الطفيلي في الماعز في منطقة البيرين ولاية الجلفة.

الدراسة شملت 10 عينات من الأمعاء (خزعات) من الماعزمختلفة الأعمار (1 إلى 4 سنوات) من مسلخ. طريقة التشخيص التي تم استخدامها للكشف عن كريبتوسبوريديوم هي تقنية القسم النسيجي.

معدل الانتشار المسجل حتى على عينة صغيرة تكشف ان هذا المرض يتم تشخيصه خطأ في كثير من الاحيان و هو واسع الانتشار و يجب اجراء دراسات على عينات أكبر.

الكلمات المفتاحية:كريبتوسبوريديوز، ماعز، انتشار، البيرين، الجلفة.

Sommaire

Sommaire page

Remerciement……..

.

Dédicace……...

Résumé……....

Liste des figures …….....

Liste des tableaux…….....

Sommaire…….....

.

Introduction……..... 01

Chapitre I

I-A-1Définition 03

I-A-2 Historique 03

I-A-3 Taxonomie 04

I-A-3-1 La position systématique ……..... 04

I-A-4 Biologie du parasite ……..... 05

I-A-4-1 La morphologie de parasite ……... 05

I-A-4-2 Cycle de développement du parasite ……... 06

I-A-4-3 Morphologie des différents stades parasitaires ……..... 08

I-A-4-4 Pouvoir pathogène de parasite ……..... 11

I-A-4-5 Résistance de parasite dans le milieu extérieur ……..... 11

I-A-4-6 Position dans la cellule-hôte ……..... 12

I-B- La cryptosporidiose……..... 12

I-B-1 La maladie ……..... 12

I-B- 2 Epidémiologie……..... 13

I-B- 2-1 Epidémiologie descriptive……..... 13

a)- Répartition géographique……..... 13

b)-La prévalence de la cryptosporidiose..... 13
c)-La prévalence de la cryptosporidiose chez les caprins 13
I-B-2-2 Epidémiologie analytique……..……. 14
a)-Source de parasite…….....…….. 14
b)-Mode de contamination…….....…….. 15
c)-Dose infectante…….....…….. 15
d)Facteurs favorisants de la contamination…….....…… 15
-Chez l'oocyste…….....…….. 15
- Chez l'hôte…….....…….. 15
e) Spécificité de l'hôte…….....…….. 16
- Espèce…….....…….. 16
- Race…….....…….. 16
- Age…….....…….. 16
- Etat immunitaire…….....…….. 16
I-B-3 Symptômes…….....…….. 16
I-B-4 Diagnostic…….....…….. 17
I-B-4-1 Diagnostic clinique…….....…… 17
I-B-4-2 Diagnostic Laboratoire……...…… 17
I-B-4-3 Les Techniques d'étalement sur La lame et la Coloration……...……. 17
a) Méthode de Henriksen modifiée, aussi appelée Ziehl-Neelsen modifiée……..... 17
b) Méthode de Heine…….....….. 18
c) Coloration au Bleu de Méthylène Fuschine Basique…….....…… 18
I-B-4-4 Les Techniques de Concentration…….....…… 18
I-B-5 Les kits de Diagnostic Rapide…….....… 19

I-B-6 Diagnostic Différentiel……..……19
I-B-7 Diagnostic épidémiologique……..……19
I-B- 8 Diagnostic anatomopathologique…….....…20
I-B-9 Sérologie…….....……..20
I-B-10 Biologie moléculaire…….....……..20
I-C Les facteurs de risques…….....……..20
Chapitre II : l'immunité et la cryptosporidiose…….....……
I- Physiopathologie…….....……23
☐ La barrière épithéliale intestinale…….....……24
☐ Les tissus lymphoïdes associés à l'intestin : (GALT)…….....25
a)- La lamina propria (LP),…….....25
b)- Les plaques de payer (PP),……...…..25
c)- Les ganglions lymphatiques mésentériques (MLN),…….....25
☐ L'immunité…….....26
...
L'immunité innée…….....26
1- Les cellules dendritiques (DC)……..26
2- Les cellules épithéliales intestinales (CEI)…….....……26
3- Les cellules NK (Natural Killer),……...……28
4- Les macrophages et neutrophiles,…….....……29
5- Les mastocytes,…….....……..29
L'immunité adaptative…….....……...29
1. Immunité à médiation cellulaire…….....29
2. Immunité à médiation humorale…….....31
Chapitre III Partie expérimentale …….....……..
I. Objectif……..…….……34
II. Période et lieu de l'étude……..35

III. Matériel et méthodes ……..
I. Enquéte 35
III-1 Matériel……..…… 35
III.2 Méthode ……. 35
III.2.1 Modalités du recueil des donnes ……. 35
III.3.2 Mise en forme et saisie des donnes …….……. 35
III.4 paramètre étudies ……..……..……. 35
II. étude histologiques ……..……..……. 36
Matériel ……..…… 36
Matériel biologique ……..……. 36
Matériel non biologique (de laboratoire) …… 36
Réactifs et colorants……..…… 36
Autre matériels ……..…… 37
III-2 Méthode……..…… 37
Technique de prélèvement ……..…… 37
Méthode de recherche des cryptosporidies …… 37
Chapitre IV- résultat est discussion ……..
résultat ……..…… 53
Traitement des donnes du questionnaire 53
Prévalence de la cryptosporidiose…… 61
Discussion 63
Conclusion……..…… 67
RECOMMANDATIONS……..…… 69
Référence ……..…… 71

List Des Tableaux :

Tableaux **Page**

Tableau I-1 : Classification taxonomique de Cryptosporidiumspp

Tableau I-2 : Espèces du genre Cryptosporidium

Tableau I-3 : Différents stades évolutifs de Cryptosporidiumsp

TableauI-4: Quelques études publiées sur la prévalence des infections à Cryptosporidium chez les caprins.

Tableau III- 04 : Résultat global de la recherche de *Cryptosporidiumsp.*

Liste Des figures :

figure **page**

FigureI-1 : photographie au microscope électronique montrant plusieurs stades de Cryptosporidium dans l'épithélium intestinale d'un mouton

Figure I-2 : Cycle de développement de *Cryptosporidiumspp*

Figure II-1: Pathogénèse des entéropathies et cholangitescryptosporidiennes

Figure II-3 : La production et libération des molécules effectrices par les cellules épithéliales pour l'activation de l'immunité muqueuse anti-Cryptosporidium

Figure II-4 : Modulation des signaux pro- et anti-apoptotique dans divers types de cellules aux sites d'infection pendant l'infection par Cryptosporidium.

Figure II-5 : Les fonctions immunitaires des lymphocytes TCD4+ (Th1/Th2) et TCD8+ en réponse contre l'infection cryptosporidienne.

Figure III-1 : carte géographique de la région de Birine wilaya de Djelfa

Figure III-2 :laboratoire de biologie de l'université de YAHAI FARES de l'université de Médéa.

Figure III-2 :laboratoire de biologie de l'université de YAHAI FARES de l'université de Médéa.

Figure III-3 : coupe horizontale d’un prélèvement intestinal
Figure III-4 : le nettoyage de prélèvement avec l’eau robinet
Figure III-5 : une coupure pour prend d’un petit volume du prélèvement
FigureIII-6 : remplissage de boit à prélèvement avec la solution d’eau formolée à 10%.
Figure III-7 : boites à prélèvements avec la solution d’eau formolée à 10%.
Figure III-8 : le nettoyage de prélèvements etl’élimination du formol par l’eau robinet.
Figure III-9 : l’alcool éthylique absolu 100 %, alcool dilué 70% et 95%.
Figure III-10 : boites à prélèvements avec le butanol.
Figure III-11: mettre le prélèvement dans une tasse en verre avec le butanol.
Figure III-12 : Le distributeur de paraffine régler à 60°C.
Figure III-13 : les tasses en verre à butanol-paraffine dans l’étuve.
Figure III-14 : l’étuve régler à 60°C pendant 02 heures.
Figure III-15 : les moules et les cassettes.
Figure III-16 : mettre la biopsie dans leur propre moule à paraffine.
Figure III-17 : mettre la cassette sur le moule.
Figure III-18 : Les moules de paraffine-biopsie.
Figure III-19 : le démoulage pour obtient un bloc de paraffine
Figure III-20 : réalisation des coupes par un microtome.
Figure III-21 : séchage des lames avec une chauffe lame.
Figure III-22 : mettez les lames dans le panier
Figure III-23: coloration des lames
Figure III-24 : montage avec l’eukitt.
Figure III-25 : séchage des lames à l’air (photo personnelle
Figure III-26 : une section de jéjunum d’un mouton après coloration par H&E grossissementsx10.

Liste des abréviations

ELISA : Enzyme- linkedimmunoAssay.

C : Cryptosporidium.

spp : sous- espéce.

ID : Dose infectieuse.

ID50 : Dose infectieuse 50.

MID : Dose minimale infectieuse.

µm : micrométre.

ppm : partie par million.

NF-KB : Nuclear factor – Kappa B.

C-src : Cellular Src or proto- oncogene tyrosine kinase Src.

IL : Interleukine.

BcL-2 : B- celllymphoma 2.

Fas : Fetalalcohol syndrome.

Fas-L : Fetalalcohol syndrome – ligand.

Na Cl : Sodium Chloride.

PGE2 : Prostaglandine E2.

PGI2 : Prostaglandine I2.

IFN-γ : Interferon–γ.

5-HT : 5- hydroxytryptamine.

IEC : Cellule épithéliales intestinale.

Cellule M : Cellule Microfold.

GALT : Tissue lymphoide associe au muqueuse.

LP : Lamina propria.

PP : Les plaques de payer.

MLN : Les ganglions lymphatiques mésentériques.

CD4 : Cluster of differentiation 4.

CD8 : Cluster of differentiation 8.

CD25 : Cluster of differentiation 25.

DC : Cellule dendritique.

SED : Dôme sous épithéliale.

FAE : Follicule associe à l'épithélium.

APC : Cellule présentatrice d'antigénes.

CMH : le complexe major d'histocompatibilité.

ILF : Follicules lymphoides isolés.

NK : Natural Killer.

LT : Lymphocytes T.

LB : Lymphocytes B.

Th : T helper.

TNF- α : Tumor necrosis factor- alpha.

J : Jours.

PRR : des recepteurs de reconnaissances de pathogéne.

TLR : Toll like receptors.

GRO-α : Growth related oncogene – alpha.

RANTES : Regulated upon activation, Normal T cell expressed and presumably secreted.

CXCL : CXC chemokine ligand.

CCL : CC chemokine ligand.

LL-37 : 37 amino acid cationic peptide.

iNOS : Oxyde nitrique sybthase inductible.

NO : Oxydenitrique.

MBL : Mannose Biding Lectin.

NKG2D : The natural killer Group 2 D.

MICA : MHC class 1 chain – related protein A.

MICB : MHC class 1 chain – related protein B.

ARNm : Acide ribonucléique messager.

SCID : Immunodéficients combinée sévéres.

TGF-β : Transforming growth factor – β.

IgA : Immunoglobuline A.

IgG : Immunoglobuline G.

IgM : Immunoglobuline M.

Introduction

Introduction :

La cryptosporidiose est une infection parasitaire dont l'agent étiologique est unprotozoaire parasite du genre Cryptosporidium. Ce parasite a la faculté d'infecter le tractus intestinal d'un grand nombre de vertébrés, y compris l'homme. Il a été isolé pour la première fois, chez la souris en 1907.

Cet agent a longtemps été considéré comme un organisme commensal jusque dans les années70, date à laquelle les vétérinaires ont reconnu son pouvoir pathogène et où il fut tenu pour responsable d'épidémies de diarrhées parfois mortelles dans les élevages de jeunes veaux.

L'importance de cette infection n'en est pas moindre en santé publique. En effet, la recrudescence du nombre d'individus immunodéprimés, notamment avec l'apparition du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA) dans les années 80, s'est accompagnée d'une augmentation de la prévalence d'infections opportunistes telles que la cryptosporidiose. Cette infection, chez les immunodéprimés, est à l'origine de diarrhées sévères engageant le pronostic vital. Toutefois, les sujets immunocompétents peuvent également être infectés et déclarer des diarrhées de courte durée évoluant spontanément vers la guérison.

Les possibilités thérapeutiques sont réduites. En effet, près de deux cents molécules ont déjà été testées mais aucune ne permet un contrôle total de la maladie aussi bien chez l'homme que chez l'animal. Les modes de transmission direct et indirect, en raison de la grande résistance des oocystes dans le milieu extérieur, rendent difficile le contrôle de la maladie.

En effet, les oocystes de Cryptosporidiumspp sont massivement excrétés dans les fèces des animaux ou des humains infectés. Ces formes parasitaires contaminent l'environnement et peuvent être véhiculées notamment par l'eau. Etant directement infectieux après leur émission, ils peuvent être transmis par simple contact direct avec un individu infecté.

La plupart des épidémies liées à Cryptosporidiumspp ont pu être reliées à l'ingestion d'oocystes véhiculés par l'eau (épidémie de Milwaukee, USA en 1993), et à moindre degré, à ceux contenus dans certains aliments. Enfin, quelques cas plus sporadiques de transmission de l'animal à l'homme dans des élevages bovins et ovins ont été mis en évidence dans le monde **[1].**

Chapitre I: Généralités

Cryptosporidiumsp:

I-A-1Définition :

Protozoaire parasite du tube digestif, les espèces du genrecryptosporidium se rencontrent chez une large gamme de vertébrés : mammifères, oiseaux, reptiles et poissons.
L'infection cryotosporidienne plus fréquemment chez les nouveau-nés des ruminants des trois semainede la vie au méme temps décrit chez individus de tout age. **[2]**

C'est une zoonose responsable d'importantes pertes économique chez les animaux de la rente (bovin, ovin, caprin, équin et camelin) avec une morbidité élevées. **[3]**

I-A-2 Historique :

Historique L'une des premières observations du parasite fut surement celle du docteur James Jackson Clarke en 1894. Il remarque la présence de coccidies dans le tractus digestif d'une souris trouvée morte **[4].**

Ensuite, en 1907 le genre Cryptosporidium fut découvert par Ernest Edward Tyzzer par observation au microscope du parasite dans les glandes gastriques d'une souris puis il décrit l'espèce Cryptosporidiumparvum en 1912. Le parasite fut enfin reconnu comme pathogène humain pour la première fois dans les biopsies rectales d'un enfant de trois ans atteint d'entérocolite qu'en 1976 **[5].**

Ce n'est qu'au début des années 80 que la cryptosporidiose a fait une bruyante émergence avec l'apparition du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA). En effet, depuis 1981, des parasitoses intestinales ont émergé en pathologie humaine. Le premier cas de cryptosporidiose chez un homosexuel sidéen a été rapporté en 1982 **[6].**

Depuis ce temps, de nombreux cas de cryptosporidiose ont été diagnostiqués aussi bien chez des patients immunodéprimés que chez les personnes saines. L'épidémie la plus connue est celle de 1993 à Milwaukee (États-Unis d'Amérique). Elle aurait touché plus de 400 000 personnes ayant bu de l'eau du robinet contaminée **[7].**

A partir de 1997, le nombre de cas de cryptosporidiose chez les patients sidéens a considérablement diminué en raison de l'utilisation de thérapie antirétrovirale, surtout dans les pays développés. La situation reste cependant préoccupante dans les pays en voie de développement où l'accès à la multi thérapie est limité dans certains pays **[8].**

En 1996, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a classé ce parasite comme pathogène ayant une importance en santé publique

I-A-3 Taxonomie :

La connaissance sur la taxonomie du genre Cryptosporidium et l'identification des espèces reposent sur les outils récents de la biologie moléculaire. De nouvelles données viennent constamment compléter ou corriger l'état actuel des connaissances concernant la systématique de Cryptosporidium, qui fait encore l'objet de publications quasi mensuelles. Cryptosporidium est un protozoaire de l'embranchement des Apicomplexa. On a longtemps pensé que Cryptosporidium était apparenté aux coccidies, en raison des nombreuses similitudes de leur cycle biologique. Cependant Cryptospridium ne semble pas posséder d'organelle « mitochondria-like », retrouvé chez les coccidies classiques **[9].**

I-A-3-1 La position systématique : de Cryptosporidiumspp au sein des protozoaires est décriteci-dessous (Tableau 1).

Tableau I-1 : Classification taxonomique de Cryptosporidiumspp. **[10] ;[11]**

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

Tableau I-2 : espèces du genre Cryptosporidium [12].

Espèce	**Hôte principal**
C.parvum (anciennement cryptosporidiumparvum génotype 2)	Bovins, ovins, caprins, Homme
C.hominis (anciennement cryptosporidiumparvum génotype 1)	Homme, singe
C.muris	Rongeurs, camélidés
C.andersoni	Bovins, camélidés
C.felis	Chat
C.wrairi	Cobaye
C.canis	Chien
C.suis	Porc
C.meleagridis	Oiseaux (dinde)
C.bailleyi	Poulet dinde, autres oiseaux
C.galli	Poulet, autres oiseaux
C.serpentis	Lezards,serpents
C.saurophilum	Lézards
C.molnari	Poissons

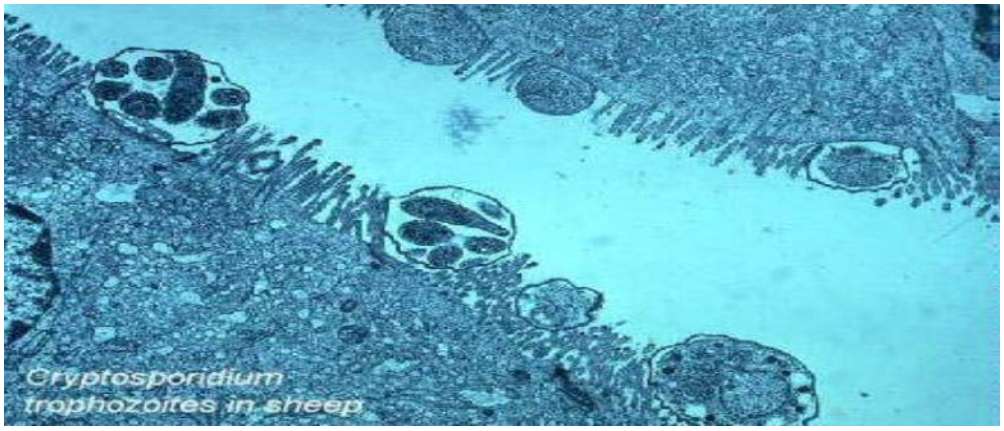
I-4 Biologie du parasite :

Les connaissances sur la morphologie des oocystes (taille, forme) ainsi que celles sur le cycle de développement du parasite sont relativement bien établies malgré l'absence de modèles en culture cellulaire. La publication des génomes complets de C. parvum**[13]** et C. hominis**[14]** a représenté une étape importante pour l'avancée des études sur Cryptosporidiumsp**[15].**

I-A-4-1 La morphologie de parasite *:*

Le parasite a une forme sphérique a elliptique et sa taille varie de 2 à 6 micromètre de diamètre ce qui est relativement petit par rapport aux autres coccidies. Il occupe une position dans la cellule épithéliale très particulière, en zone apicale, jamais en profondeur**.[16]**

Les stades du cycle (voir figure 01) intracellulaire apparaissent en coupe histologique sous forme de petit corps basophiles donnant à la bordure en brosse un aspect granuleux. **[17]**



FigureI-1 : photographie au microscope électronique montrant plusieurs stades de Cryptosporidium dans l'épithélium intestinale d'un mouton. **[17]**

I-A-4-2 Cycle de développement du parasite :

L'ensemble des espèces du genre Cryptosporidium sont des parasites intracellulaires obligatoires **[11].** Ce sont des parasites monoxènes : un seul hôte est nécessaire pour effectuer leur cycle de développement qui se déroule dans les cellules épithéliales de l'intestin (pour la plupart des espèces). Cryptosporidium a un cycle de développement complexe qui débute par l'ingestion d'oocystes (formes de résistance et de dissémination) et se poursuit par des phases de multiplication asexuée et de reproduction sexuée du parasite (Figure 1).

- **Le cycle se déroule de la façon suivante :**

➢ un hôte va ingérer des oocystes dansl'environnement (Figure 1). Une fois ingéré, cet oocyste va excyster sous l'action de latrypsine et des sels biliaires et ainsi libérer son contenu soit quatre sporozoïtes (élémentsinvasifs).

➢ Ces éléments invasifs sortent de l'oocyste en se déplaçant par glissement grâce à leur Systèmemicrotubulaire pour arriver au niveau de la bordure en brosse des cellules épithélialesde l'intestin. Ils pénètrent alors dans les cellules épithéliales intestinales et s'entourent d'une vacuole parasitophore, vacuole ayant pour origine la membrane plasmique des cellules épithéliales, pour devenir des trophozoïtes. Cette vacuole, en plus d'être un lieu d'échange entre le parasite et la cellule parasitée, permet la protection du parasite en empêchant la fusion avec les lysosomes. Le parasite se développe en position intracellulaire mais extracytoplasmique.

➢ Le cycle de multiplication se poursuit par des phases de multiplication asexuée appelées mérogonie ou schizogonie. La forme trophozoïte du parasite évolue en une nouvelleforme : le méronte de type I, qui contient huit cellules filles appelées mérozoïtes de type I (formés par des divisions nucléaires successives). Ces mérozoïtes de type I, une fois libérés,ont deux devenirs possibles : soit ils participent à un phénomène de

rétro-infection enreformant des mérontes de type I, soit ils vont lyser et envahir les cellules épithéliales voisineset former des mérontes de type II (à l'origine de 4 mérozoites de type II).

- Après deux cycles de multiplication asexuée, les mérozoïtes de type II se différencient soit en microgamontes mâles (36 heures post-infection) ou macrogamontes femelles (48heures post-infection). On parle alors de gamétogonie, qui correspond à la phase sexuée ducycle. Les microgamontes deviennent plurinucléés (chaque noyau est incorporé dans unmicrogamète non flagellé). Les macrogamètes, eux, demeurent uninucléés en devenant desmacrogamètes. La fécondation des macrogamètes femelles par les microgamètes mâlesaboutit à la formation de zygotes (oocyste immature 2 N chromosomes).
- Une fois le zygote formé, une enveloppe kystique résistante (ou paroi) va se former autour de lui. Celui-ci va ensuite subir la sporulation (à l'intérieur de l'hôte à la différence descoccidies) qui donne, par méiose, 4 sporozoïtes (N chromosomes). Ainsi se forme l'oocyste sporulé de Cryptosporidium.
- Ces oocystes matures sont émis directement sporulés dans lalumière intestinale et sont donc directement infectants pour un hôte sensible. Deux typesd'oocystes sont formés : ceux à paroi épaisse (80%) qui constituent la forme de résistance etde transmission, éliminés dans les selles de l'hôte et ceux à paroi fine (20%) qui participent auphénomène d'auto-infection (excystation in situ) chez le même hôte. Ces particularités(oocyste directement infectant, auto-infection par des oocystes à parois fine) ne sont paspartagées par les autres coccidies

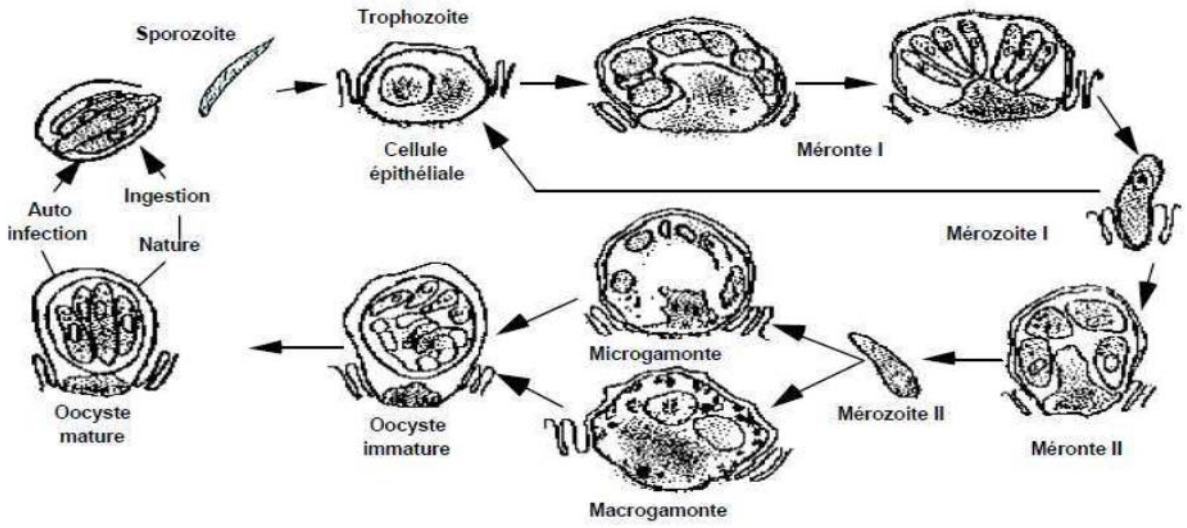
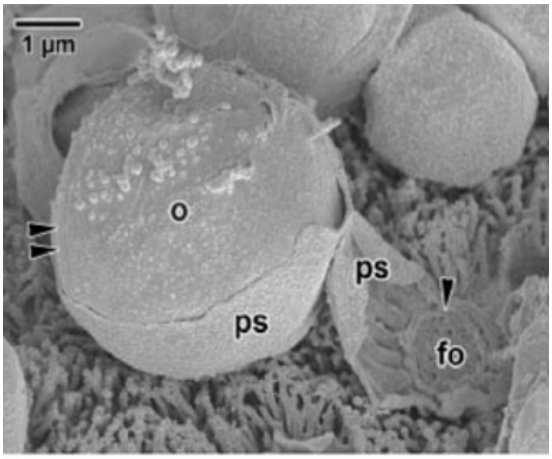


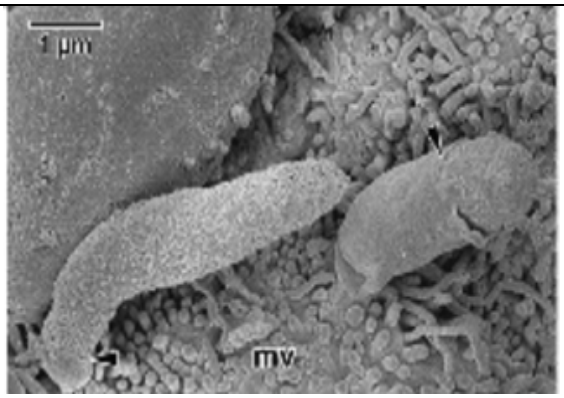
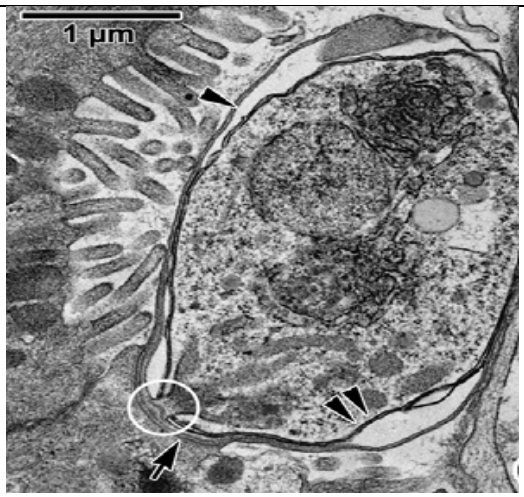
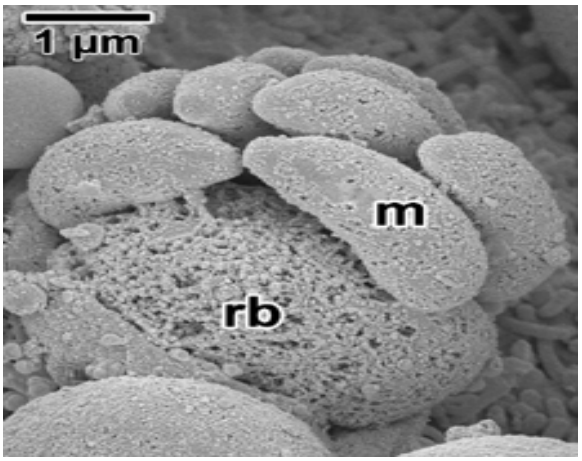
Figure I-2 : Cycle de développement de *Cryptosporidiumsp.***[11]**

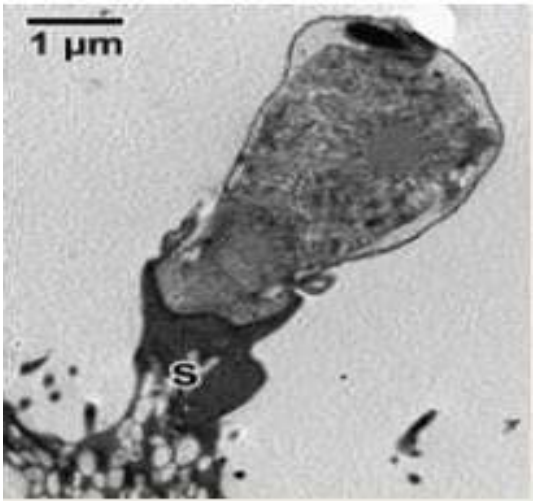
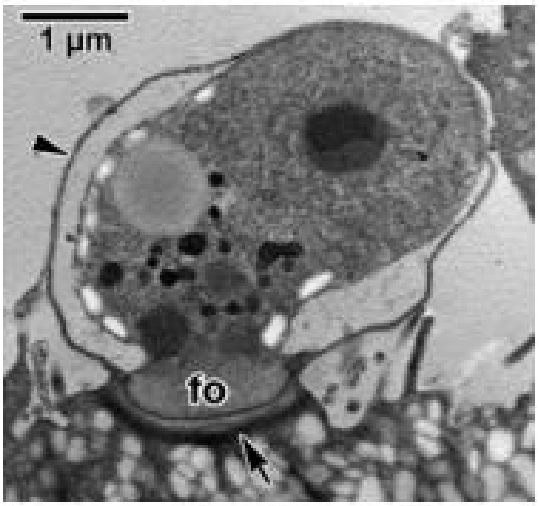
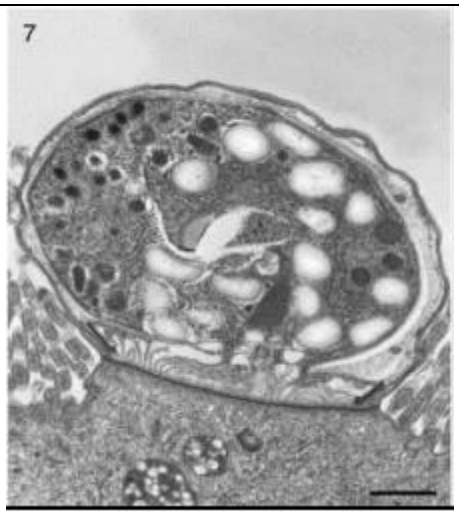
I-A-4-3 Morphologie des différents stades parasitaires :

Dans les années 1980, la microscopie électronique a fait son apparition et a permis la différenciation des différents stades parasitaires et de préciser les caractères morphologiques de *Cryptosporidiumsp.*

Tableau I-3 : Différents stades évolutifs de Cryptosporidiumsp [18], [19].

Formes Evolutives	***Images***	***Description***
Oocystes	 o :oocyst ps : vacuole parasitophore (« parasitophorus sac » fo : organelle nourricier (« feeder organelle »)	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.
		1. Ils sont élancés, virguliformes. 2. Formes libres et mobiles. 3. Présence d'un complexe apical.

Sporozoïte ***Et*** ***Merozoïte***	 Mv : microvilosités	
Trophozoïte		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.

Microgamonte		1. Ils ressemblent aux mérontes, mais contiennent des noyaux plus petits. 2. Des divisions nucléaires successives dans le microgamontes forment de microgamètes. 3. Ils sont une forme en tige avec une extrémité antérieure aplatie 4 à 5µm de diamètre.
Macrogamonte	 fo : organelle nourricier	1. Forme sphérique à ovoïde. Il présente en position centrale un grand noyau à nucléole proéminent, 3.2 à 5 µm de diamètre. 2. Les microgamètes fécondent les macrogamètes pour produire un zygote qui évolue en oocyst.
Zygote		1. Zygote mûr mais toujours connecté via l'organelle nourricière à la cellule hôte.

I-A-4-4 Pouvoir pathogène de parasite :

L'homme et les animaux s'infectent en ingérant des oocystes de Cryptosporidiumspqui, pour la plupart, vont atteindre l'intestin et libérer leurs sporozoïtes. Les sporozoïtes vont alors aller envahir les cellules épithéliales intestinales du tube digestif (pour les espèces de Cryptosporidium à tropisme digestif).

Le parasite se localise préférentiellement dans les cellules épithéliales intestinales de l'iléon etdu jéjunum mais quelques espèces de Cryptosporidium à tropisme intestinal ont déjà étéretrouvées dans le caecum, le côlon et occasionnellement dans l'estomac et le duodénum **[20].** (L'extension de ces espèces au niveau de l'appareil respiratoire,
vésicule biliaire, canaux pancréatiques ne s'observe que chez l'hôte immunodéprimé **[21],[22],[23],[24].**

L'espèce la plus étudiée est C. parvum. Celle-ci parasite la bordure en brosse des entérocytes. Bien que ce parasite ait une position particulière, sa multiplication au sein des cellules peut produire des anomalies significatives dans les fonctions d'absorption et de sécrétion de l'intestin (notamment en détruisant les microvillosités de l'iléon) **[25] , [26].**

I-A-4-5 Résistance de parasite dans le milieu extérieur :

Les oocystes de Cryptosporidiumparvum sont très résistants dans le milieu extérieur, que ce soit dans l'eau, le sol ou bien les matières fécales, la difficulté du traitement et de la désinfection de parasite explique la survie dans les différents substrats. Les oocystes de Cryptosporidium demeurent viables pendant quatre à douze mois dans les sols humides et dans l'eau entre 4 et 20°C **[27].**

Les pH acides semblent plus favorables à la survie des oocystes comme le suggère la plus grande quantité d'oocystes retrouvée dans des sols de fermes au pH acide par rapport à des sols aux pH neutre et basique aux Etats-Unis **[28].** L'exposition à des températures très basses conduit à une inactivation partielle des oocystes (67%). la congélation à-10°C pendant 7 jours ils demeurent viables **[29].** Les oocystes traités à 72°C pendant seulement cinq secondes sont tués **[30].** La résistance est augmentée dans les matières fécales qui préservent les oocystes de la dessiccation **[31],** dépendrait de trois paramètres : o La température : des températures élevées et des phases de gel et de dégel alternées réduisent la viabilité des oocystes ; o Le temps : l'obscurité tend à diminuer la viabilité ; o La concentration en ammoniaque : des concentrations élevées peuvent entraîner une inactivation des oocystes **[32].** Les oocystes sont remarquablement résistants aux désinfectants utilisés couramment (composés alcalins ou contenant des aldéhydes, ammoniaques, du chlore ou de l'alcool) **[16].** La viabilité des oocystes est altérée lors d'une exposition à de l'ammoniac à 3% **[33],** ainsi que seul le dioxidede chlore

à 1,3 ppm, l'ammoniac à 5% ou le formaldéhyde à 10% sont efficaces pour détruire les oocystes de *Cryptosporidium* **[34].**

I-A-4-6 Position dans la cellule-hôte :

Le genre *Cryptosporidium* occupe une place tout à fait unique dans la cellule puisque le parasite est en position intracellulaire mais extra cytoplasmique. Lors du contact du parasite avec la cellule-hôte, des enzymes (notamment des rhoptries et des micronèmes) sont libérées entrainant l'englobement du parasite par des microvillosités de la membrane apicale de l'hôte et ainsi la formation de la membrane de la vacuole parasitophore. Cependant Cryptosporidium n'est qu'en partie entouré de cette membrane et prélève une majorité de ses nutriments grâce à l'organe de nutrition. Celui-ci a une origine double puisqu'il dérive à la fois du parasite et de l'hôte. La localisation très protégée de Cryptosporidium au sein de la cellule-hôte peut expliquer les échecs de traitement contre le parasite. L'organe de nutrition pourrait notamment bloquer l'entrée de molécules dans le parasite protégeant celui-ci de l'action de molécules à activité intracellulaire **[16].**

I-B- La cryptosporidiose :

I-B-1 La maladie :

La cryptosporidiose est une affection zoonotique cosmopolite dont l'agent étiologique est un protozoaire du genre Cryptosporidium et dont le développement se déroule, comme nous venons de le voir, dans les cellules épithéliales des vertébrés **[35],[36],[20],[2].** Le principal symptôme observé est la diarrhée qui est particulièrement sévère chez les nouveaux nés (animaux ou humains) et les individus immunodéprimés.

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

Cette parasitose est responsable d'importantes pertes économiques en élevage de ruminants. Les animaux âgés de 7 à 21 jours sont particulièrement sensibles à cette maladie diarrhéique, caractérisée par une morbidité et une mortalité élevées **[37],[38].**

Les jeunes ruminants les plus sensibles à cette maladie sont les chevreaux.

I-B- 2 Epidémiologie :

I-B- 2-1 Epidémiologie descriptive :

a) - Répartition géographique :

La cryptosporidiose des ruminants est présents dans le monde entier, **[3]** elle est cosmopolite et les travaux de littérature montrent son existence sur les six continents, tant en zones urbaines qu'en zones rurales.

b) La prévalence de la cryptosporidiose :

La prévalence représente le pourcentage d'animaux infectés par *Cryptosporidiumsp*
Dans une population donnée à un instant donnée. **[39]**
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. **[39]**

c) La prévalence de la cryptosporidiose chez les caprins :

d) TableauI-4 : Quelques études publiées sur la prévalence des infections à Cryptosporidium chez les caprins. **[40]**

Le pays	**Nombre d'animaux**	**Age**	**Prévalence %**
Belgique [15]	148	≤ 10 semaines	9,5
Brésil [16]	49	< 12 mois	10,2
	56	> 12 mois	0
Chypre (seuls les échantillons diarrhéiques collectés) [17]	75	04-15 jours	64 (Zeihl-Neelsen modifié), 86,7 (ElISA)
France [18,19]	200	05-12 mois	2,5
	879	05-30 jours	16,2
Inde [20]	116	< 03 mois	3,5
Espagne (seuls les échantillons	5	< 21 jours	40

diarrhéiques collectés) [21]				
Espagne [22] [23]	116	Adulte	7,7	
	134	≤ 15 jours	10,4	
	144	> 15 jours – 02 mois	13,4	
	304	> 02 mois	25,2	
Sri Lanka [24]	558	≤ 06 mois	33	**Globalement 27,96%**
	133	06- 12 mois	30,8	
	329	> 12 mois	20,1	
Sri Lanka (seuls les échantillons diarrhéiques collectés) [25]	72	01 – 12 mois	0 – 75	
Tunisie [26]	184	01 - 07 ans	0	
Royaume-Uni [27]	15	Adulte	20	

La différence dans la prévalence de la cryptosporidiose chez les caprins peut être déterminée par les variations de l'âge, la gestion et les techniques de diagnostic des animaux, l'environnement géo-climatique, la taille d'échantillon et aux variations saisonnières. **[41 , 42]** Par exemple, dans une étude de la prévalence à grande échelle menée au Sri Lanka **[43],** des oocystes de cryptosporidium ont été identifiés chez 291 chèvres (28,5%) parmi 1050 animaux, de plus le nombre d'oocystes de cryptosporidium était significativement plus élevé chez les chevreaux de moins de 06 mois et chez les animaux de 07 à 12 mois par rapport aux chèvres de plus de 12 mois. **[44,45]**

L'infection touche les animaux les plus jeunes alors sont plus sensible à l'infection que les plus âgés **[46]**

I-B-2-2 Epidémiologie analytique :

a) Source de parasite :

La principale source est bien sur représentée par les fèces des autres animaux de L'élevage : en premier lieu, les nouveau-nés. Que ce soit **chevreaux** ou agneaux, l'excrétiond'oocystesdans les premières semaines est considérable et le milieu est très vite fortementcontaminé.**[47]**

Les mères représentent comme une source insidieuse de contamination. **[47]**

Les animaux sauvages peuvent être considérés comme des sources de parasite. **[48]**

b) Mode de contamination :

La voie d'infection la plus commune est un contact étroit avec les fèces diarrhéiques des ovines 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. **[39]**

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. **[49]**

c) 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. **[50]**

Néanmoins, la période prépatente est de quelques jours plus long dans les infections expérimentales avec une faible dose infectante. **[51]**

d)Facteurs favorisants de la contamination :

-Chez l'oocyste

- ✓ la taille réduite des oocystes.
- ✓ leur résistance au chlore.
- ✓ leur caractère sporulé.
- ✓ leur résistance dans l'environnement.
- ✓ le réservoir de parasites, et l'excrétion massive des oocystes par les individus infectée qui assurent la contamination des ressources hydriques. **[49]**

- 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.

- ✓ L'état de santé des animaux (excrétion des oocystes plus important en cas de diarrhée). **[49]**

e) Spécificité de l'hôte :

La spécificité de ce parasite résumé dans ces données :

- Espèce :

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

- Race :

La race ne semble pas être un facteur de prédisposition à l'infection. En revanche, le mode de stabulation, de maternité ou la densité de l'élevage qui varie en fonction des races sont des facteurs de risque.

- Age :

La cryptosporidiose est essentiellement une maladie du nouveau-né. La plupart des cas cliniques se produisent entre l'âge de 4 et 15 jours chez les chevreaux. Chez les adultes, la maladie est généralement asymptomatique.

- Etat immunitaire :

Le parasite s'installe plus facilement chez l'animal sur un terrain immunodéprimé. Il est clair que la cryptosporidiose affecte les individus très jeunes, dont le système immunitaire est encore immature. **[52]**

I-B-3 Symptômes :

La maladie s'exprime cliniquement essentiellement chez les animaux nouveau-nés. Leschevreaux peuvent être contaminés juste après la naissance. S'ils demeurent artificiellement en dehors de tout contact avec le parasite **[53],** ils seront, avec l'âge, toujours sensibles à l'infection mais les signes cliniques seront moins sévères. Chez l'adulte, le développement du parasite ne s'accompagne généralement pas de symptômes.

La principale manifestation clinique est une diarrhée aqueuse profuse, de couleur jaune pâle et ayant une odeur désagréable **[54].**

Elle est précédée d'une phase d'abattement et d'anorexie. Cette diarrhée s'accompagne de L'excrétion d'oocystes. Elle débute 3 à 5 J après l'infection **[55].**

D'autres signes cliniques non spécifiques s'observent comme de l'anorexie, de la déshydratation consécutive à la diarrhée, une perte de poids et une baisse de l'état général

Avec abattement, poil piqué, hyperthermie.

Pratiquement tous les animaux souffrent de diarrhée mais la plupart se rétablissent en une à deux semaines. En général, ils n'ont pas besoin de traitement et les pertes ne dépassent pas 2 % du troupeau **[56].**

I-B-4 Diagnostic :

I-B-4-1 Diagnostic clinique :

Le diagnostic clinique se base sur les symptômes et paramètres cliniques suivants :

- Touche les chevreaux âgés de 4 à 20 J.
- Spectre très contagieux (souvent plus de 30 % des jeunes).
- Diarrhée de couleur claire et consistance mayonnaise, d'abord liquide puis mucoïde, d'odeur nauséabonde au bout de 1 à 2 J.
- Signes de douleur abdominale,

Souvent ptose et épreintes, abattement et anorexie apparaissant 12 à 48 heures avant la diarrhée.

- Perte de poids et déshydratation modérée.
- Persistance des symptômes pendant une semaine environ.
- L'évolution se fait sur une dizaine de jours avec amaigrissement et relativement peu de

Mortalité s'il n'y a pas de complication infectieuse.

Cette complication étant relativement fréquente et souvent accompagnée de mortalité. **[57]**

Les antibiotiques s'avèrent alors inefficaces, ce qui peut orienter le diagnostic. **[57].**

I-B-4-2 Diagnostic Laboratoire :

Le recours aux techniques de laboratoire est le seul moyen de démontrer de façon certaine l'implication de *Cryptosporidiumsp*. Ces techniques reposent sur la mise en évidence du protozoaire et peuvent être réalisé à partir d'un animal mort ou vivant, pare prélèvement fécal. **[58].**

I-B-4-3 Les Techniques d'étalement sur La lame et la Coloration :

Ces techniques de colorations sont simples et peu onéreuses. Elles requièrent un oeilexercé. Le diagnostic de routine est souvent fait avec ces méthodes étant donné le haut

niveau d'excrétion d'ookystes chez les animaux diarrhéiques atteints de cryptospridiose. **[59].**

a) Méthode de Henriksen modifiée, aussi appelée Ziehl-Neelsen modifiée :

La coloration de Ziehl-Neelsen modifiée permet de visualiser les oocystes colorés par la fuchsine, ils apparaissent rouges sur fond bleu. C'est la méthode de référence.

Certaines structures risquent d'être confondues avec les oocystes :

- des levures, elles sont en fait plus grosses que les oocystes (6 à 10 microns) et de couleur bleue.

- ✓ des globules de graisse.
- ✓ des éléments bactériens (plus petits).
- ✓ des grains d'amidons, rouges et ronds avec des cercles concentriques.
- ✓ des dépôts de fuchsine, rouges et sans structures internes .C'est une méthode semi-qualitative.

b) Méthode de Heine :

La méthode de Heine : est la méthode utilisée au Laboratoire d'Études et Recherches Caprines de Niort. Les oocystes apparaissent brillants sur un fond rouge et plus sombre.
Ils ne doivent pas être confondus avec des bulles d'air, réfringentes également, mais sansstructures internes. Les lames doivent être lues rapidement (dans les 15 min), la réfringences'atténue et disparaît ensuite. **[59].**

La lecture est nettement plus facile en microscopie à contraste de phase. Ce matériel n'est pas toujours très répandu ce qui constitue une des limites d'utilisation de la méthode. La méthode peut apporter des informations semi-quantitatives.

Le comptage des oocystes permet d'obtenir un score : une + correspond à « moins d'un oocyste par champ à l'objectif x 40 » et 4 + à plus de « 20 oocystes par champ » avec le même objectif. **[60].**

c) Coloration au Bleu de Méthylène Fuschine Basique :

Les frottis fixés à l'éthanol sont recouverts d'une solution de bleu de méthylène à 0.5%, chauffés pendent 3 min de coloration et puis rinçage.
Les oocystes apparaissent colorés en bleu sur un fond rose.

Cette technique à l'avantage d'être rapide et spécifique**. [61]**

I-B-4-4 Les Techniques de Concentration :

Elles sont plus sensibles que les précédentes. Parmi ces techniques, la flottation en solution de saccharose saturée est la plus utilisée.
Une quantification est possible par comptage des ookystes en cellule de Thomas .

La lecture doit se faire immédiatement après la préparation de la lame et suppose un Œil averti.

Ces trois méthodes sont les plus classiquement utilisées. Elles ne sont pas lourdes à mettre enoeuvre et leur niveau de sensibilité est suffisant sur des animaux diarrhéiques.
Les techniques d'Immuno-marquage, immunofluorescence et ELISA ont une haute sensibilité et une bonne spécificité. Leur réalisation est plus lourde.

I-B-5 Les kits de Diagnostic Rapide :

Des kits de diagnostic rapide par immunochromatographie ont été mis au point récemment par le laboratoire BVT .Pour la détection de l'ookyste de *C. parvum,* le test a une sensibilité de 0,947 et une spécificité de 0,95.

I-B-6 Diagnostic Différentiel :

Le diagnostic différentiel chez l'animal est rendu difficile par les symptômes peu spécifiques et par la présence simultanée dans les classes d'âge concernées d'autres agents comme les virus : Rotavirus, coronavirus, ou les autres agents : *Clostridium perfringes*type B, *Escherichia coli,* entérotoxinogènes ou *Salmonella sp*et*Giardia duodénales*. **[36].**

I-B-7 Diagnostic épidémiologique :

Tous les ruminants sont susceptibles d'héberger et donc d'excréter des cryptosporidies. Les différentes enquêtes en caprin ont montré que les animaux adultes excrétaient à base bruit sans aucun signe clinique des oocystes de *Cryptosporidiumsp*.

- ✓ Résistants dans le milieu extérieur et peuvent persister dans les locaux ou sur le matériel d'une année à l'autre en l'absence de nettoyage et de désinfection.
- ✓ La source de parasites pour les chevreaux nouveau-nés peut être à la fois les adultes et l'environnement.
- ✓ Les jeunes se contaminent probablement durant les premières heures ou jours de leur vie.
- ✓ Les signes cliniques apparaissent 3 à 6 jours plus tard sur un nombre important d'animaux : faiblesse, diarrhée jaunâtre et éventuellement mortalité.
- ✓ Les animaux ne sont plus réceptifs au-delà de la 3eme semaine.

Lorsque la maladie est déclarée, il y a 100% de morbidité (tous les animaux de la classe d'âge 2 semaines étant atteignent) et 80 % de mortalité.

Parmi tous les ruminants, le chevreau est indiscutablement l'animal le plus sensible. Les conditions de l'apparition de la cryptosporidiose ne sont pas très claires.

En effet, le parasite est probablement présent dans l'ensemble des exploitations caprines et pourtant les épisodes de cryptosporidiose aigue ne touchent que certains troupeaux certaines années.

Tous les facteurs relatifs à l'hygiène générale ont probablement une importance dans l'apparition de la maladie : densité animale, paillage, propreté et qualité de l'alimentation et de l'abreuvement, qualité du colostrum.

La pathologie associée joue probablement un rôle majeur dans l'apparition de la maladie en affaiblissant les animaux en favorisant la contamination puis la multiplication du parasite chez les animaux qui alors excrètent des millions d'ookystes dans leurs matières fécales.

On constate souvent un épisode pathologique initial (diarrhée colibacillaire à 24-48 h) qui se complique par la suite par une cryptosporidiose à la seconde semaine.
Une fois cette cryptosporidiose (initialisée) sur quelques animaux, la contamination Environnementale est telle que tous les animaux entrant dans ces locaux sont infectés puis Malades.

De même, le passage veaux à agneaux et chevreaux ou l'inverse par l'intermédiaire de bottes ou de matériel souillés a déjà été constaté **[57].**

I-B- 8 Diagnostic anatomopathologique :

La muqueuse intestinale parasitée est le siège d'une réaction inflammatoire non spécifique ou parfois d'altérations plus importantes : atrophie villositaire, allongement des cryptes.

Les cryptosporidies apparaissent comme des organismes arrondis de 3 à 6 μm de diamètre accolés à la surface de la muqueuse. L'étude ultra structurale des échantillons permet une identification certaine du parasite, mais n'est pas concevable en pratique médicale quotidienne. Le marquage par un anticorps monoclonal spécifique est donc une alternative intéressante. **[62].**

I-B-9 Sérologie :

Cette approche est utilisée dans le cadre d'enquêtes épidémiologiques ou dans l'analyse de la réponse immunitaire de l'hôte. **[63]** Des anticorps sériques de classe IgG, IgA, IgM et IgEapparaissent au cours de l'infection et peuvent être détectés par immunofluorescence, Elisa en utilisant différents extraits aqueux d'oocystes de C. parvum.

I-B-10 Biologie moléculaire :

La PCR est plus sensible que les tests conventionnels et immunologiques pour détecter les oocystes fécaux bien que la sensibilité des méthodes publiées soit évaluée entre 1 et 106 oocystes. Ces techniques sont souvent restreintes à des laboratoires spécialisés. **[64].**

I-C Les facteurs de risques :

Liés à l'apparition de la maladie au sein d'un troupeau dépendent majoritairement des méthodes d'élevage. Celles-ci diffèrent en fonction du caractère traditionnel ou industriel de l'élevage, du mode d'élevage (box individuel ou non),
du type de mise-bas (collective ou non), des facteurs hygiéniques (fréquence du nettoyage des bâtiments, ventilation, paillage), ainsi que de la promiscuité entre élevages bovins, caprins et

ovins au sein d'une même exploitation **[65],[66].**

Chapitre II :

L’immunité et la cryptosporidiose

I- Physiopathologie :

- La fixation de l'organisme C.parvum à la surface des cellules épithéliales entraîne l'activation des voies de signal secondaires telles que les systèmes du facteur nucléaire NF-KB et c-src.**[67]**
- La libération de cytokines et chémokines associées à la voie du NF-KB comme : IL-8 qui déclenche une réaction inflammatoire et d'autres qui vont stimulée des signaux de survie anti-apoptotique (Bcl-2) pour limitée l'apoptose aux cellules voisines non infectées (facilitant la capacité de C.parvum à survivre et propager). **[67]**
- L'apoptose dans les cellules épithéliales directement infectées est associée à la voie de mort du récepteur Fas-Ligand Fas, elle entraîne des dommages histologiques à la barrière épithéliale (une atrophie villositaire et une hyperplasie des cryptes) et comme conséquences une malabsorption et mauvaise sécrétion intestinale qui entraînent une diarrhée. **[67] [68]**
- Chez un modèle du porc infecté par C.parvum, l'inhibition de l'absorption chlorure de sodium (Na Cl) peut être associées à des altérations de la perméabilité intestinales causé par :
    - Des altérations morphologiques, lorsque des lésions des cellules épithéliales villeuses.
    - Des altérations biochimiques, lorsque des sécrétions accrue deprostaglandines muqueuses (PGE2/PGI2) qui sont produits par des leucocytes recrutés dans le site d'infection.
    - Des niveaux élevés d'interféron gamma (IFN-γ) entraînent une augmentation de la perméabilité intestinale et diminuer la fonction de barrière épithéliale. **[68] [69]**
- L'organisme C.parvum induit la sécrétion de 5-hydroxtryptamine (5-HT), deprostaglandine E2 (PGE2) et une activité Entérotoxine dans la lumière. **[67]**

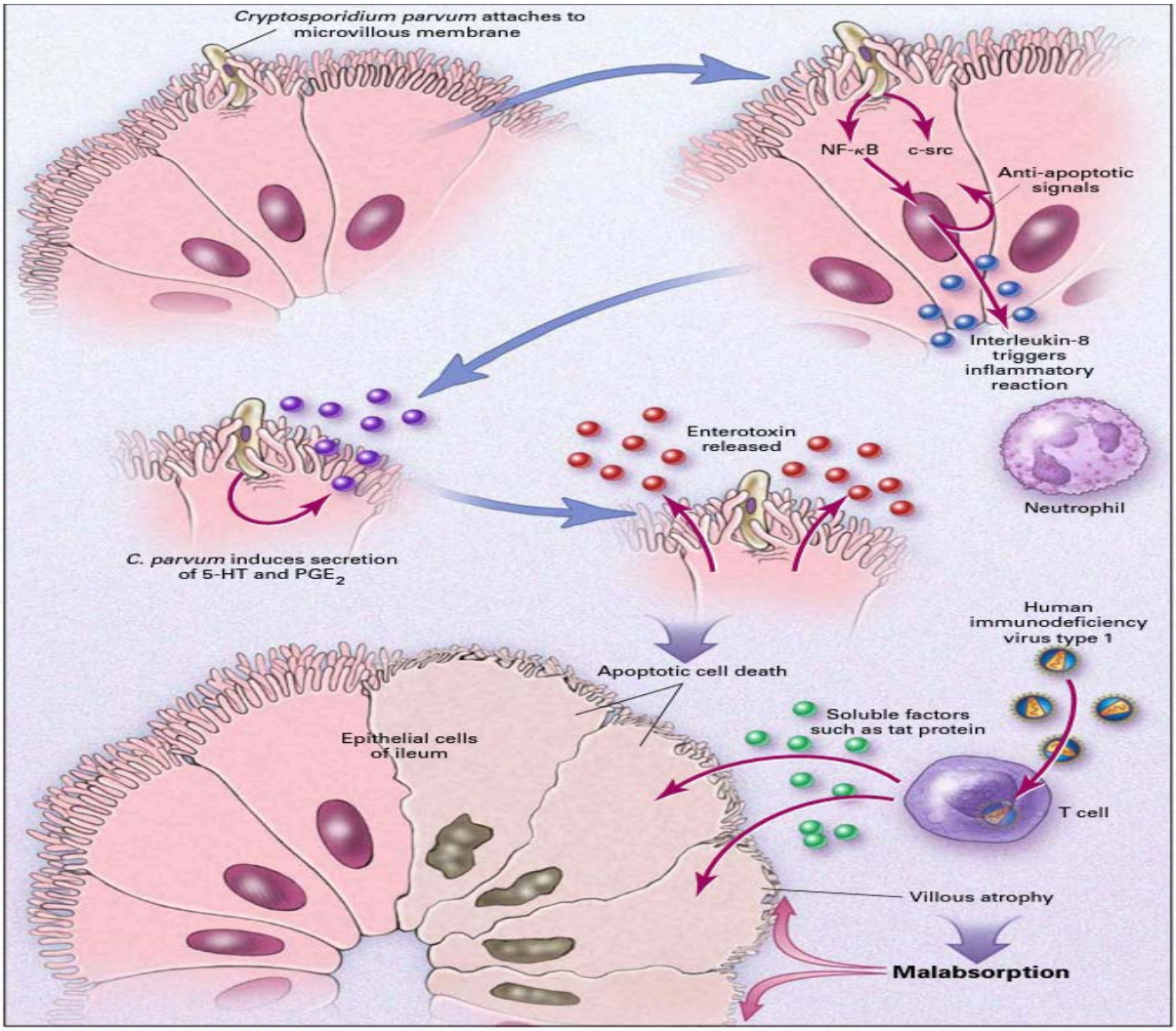


Figure II-1: Pathogénèse des entéropathies et cholangites cryptosporidiennes **[67]**

❖ La barrière épithéliale intestinale :

Elle se compose d'une seule couche des cellules épithéliales intestinales (IEC) organisées en cryptes et villosités. Avec le mucus, les IEC forment une barrière physique et biochimique qui séparé la lumière intestinale de la lamina propria, aussi il impliqué dans l'absorption des nutriments. L'épithélium intestinal contient des différentes lignes cellulaires qui jouent un rôle dans la régulation des réponses immunitaires vis-à-vis l'antigène et diverses fonctions d'absorption et de renouvellement, sont : Les cellules endocrines, les cellules microfold (cellules M), les cellules caliciformes et les cellules de Paneth. La barrière épithéliale intestinale se maintien de leur intégrité, fonction et perméabilité par des jonctions serrés qui relient les cellules épithéliales adjacentes et scellent les espaces intercellulaire. **[70]**

❖ Les tissus lymphoïdes associés à l'intestin : (GALT)

Le tissu lymphoïde associé à l'intestin (GALT) se divisé en :

- Des lymphocytes dispersés dans l'épithélium muqueux et la lamina propria.
- Des plaques de payer, des ganglions lymphocytes mésentériques (MLN) et des petits follicules lymphoïdes isolés qui ressemblent au plaques de payer, ces derniers sont des tissus organisés responsables à l'induction de la réponse immunitaire intestinale. **[71]**

1. **La lamina propria (LP),** où se trouvent la majorité des cellules immunitaires intestinales, contient également l'approvisionnement en sang et un système de drainage lymphatique. Les lymphocytes dispersés dans la lamina propria (LPL) sont principalement des lymphocytes TCD4/CD8, lymphocytes T régulateurs (CD25) et des plasmocytes, la lamina propria riche en cellules immunitaires innées notamment : les cellules dendritiques (DC), macrophages, mastocytes et quelques cellules lymphoïdes innées (ILC). **[70] [72]**
2. **Les plaques de payer (PP),** c'est le principale site inducteur de la réponse immunitaire muqueuse, sont composées des agrégats lymphoïdes qui contiennent des follicules de cellules B avec des zones intermédiaires de cellules T trouvées dans le dôme sous épithélial (SED). Le SED est séparé de la lumière intestinale par un épithélium associe au follicule (FAE), la FAE contient d'entérocytes spécialisées appelées les cellules M (Microfold) qui permet le transport des antigènes luminaux vers les cellules présentatrices d'antigènes (APC) qui sont dans le SED. Les cellules M ne fait pas la présentation de peptide antigénique et n'expriment pas les molécules CMH de classe 2 aux APC. Les PP contient des différent cellules immunitaires innées et adaptatives nécessaires à la réponse immunitaire principalement : lymphocytes B, TCD4/CD8, CD et les macrophages. Les follicules lymphoïdes isolés (ILF) sont similaires aux plaques de payer mais plus petits. **[70] [71] [72] [73]**
3. **Les ganglions lymphatiques mésentériques (MLN),** Leur fonction principale est la filtration du la lymphe provenant de l'intestin **[70],** les plaques de payer et la lamina propria sont drainées par des vaisseaux afférents qui vont au MLN **[71],** cette filtration induit à l'initiation des réponses immunitaires contre les antigènes entrant, les MLN contiennent un grand nombre de lymphocytes ainsi que des macrophages et des APC. **[70] [72]**

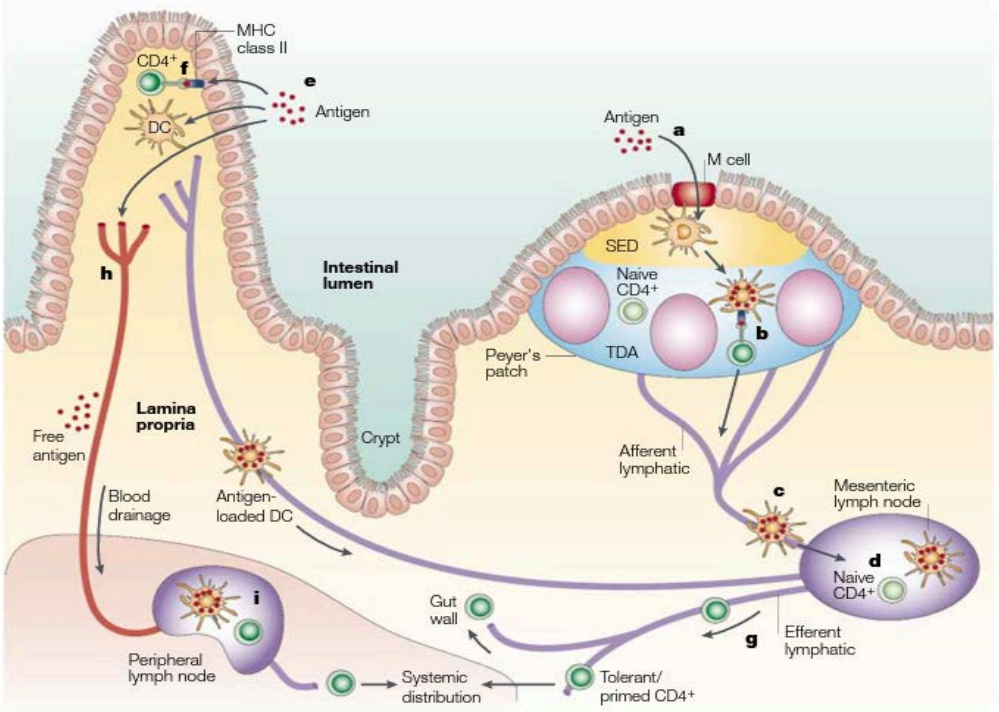


Figure II-2: Représentation schématique des éléments lymphoïdes du système immunitaire intestinal. **[71]**

❖ L'immunité :

L'immunité innée : est la première ligne de défense contre l'infection à C.parvum, elle est immédiate pour limite l'expansion du parasite et initie la réponse adaptative **[74] [75]**, les composants du système immunitaire innée comprennent les cellules inflammatoires tells que :

1. **Les cellules dendritiques (DC)** qui trouvent dans le dôme sous-épithélial (SED) vont reconnaître les antigènes dérivées du parasite C.parvum qui sont pénétrer à travers les cellules M (Microfold) dans l'épithélium associée au follicule (FAE), ces DC présentent ensuite l'antigène directement à cellule T dans les plaques de payer et peuvent aussi atteindre les ganglions lymphatiques mésentériques (MLN) à travers la lymphe drainante pour présenter l'antigène aux lymphocytes T naïfs **[70][76]** ; Il y a quelques études montrent que , la reconnaissance des antigènes solubles des sporozoites de C.parvum par DC induit de leur maturation et la production des cytokines tells que : IL-12,IL-1, IL-6, IL-18, IL-12, et TNF- α. **[76] [77] [78]**
2. **Les cellules épithéliales intestinales (CEI) :**

- Elles expriment des récepteurs de reconnaissances de pathogène (PRR) tels que les récepteurs TLR (TollLikeReceptors) à leur surface cellulaire **[78],** les produits du parasites interagissant avec les molécules TLR induit le déclenchement de la voie de

signalisation NF-κB pour l'expression des molécules pro-inflammatoires tells que les chémokines notamment : IL-8, GRO- α, RANTES, TNF- α, CXCL8, IL-12, IL-18, CXCL1 et des prostaglandines. Chez les souris nouveau-nées infectées les chémokines sécrétée sont : CXCL1, CCL2, CXCL10, CXCL9, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL7 et CCL20, sont des molécules qui attirent les cellules immunitaires effectrices au site d'infection. **[1][75] [77] [78] [79]**

- Les CEI produisent de nombreux peptides antimicrobiens comme : la cathèlicidine LL-37, Les β-défensines1 et 2 et les phospholipases qui exercent une activité antiparasitaire direct (parasiticide). **[77] [78] [79]** chez les veaux, les souris et l'homme infectée par C.parvum, il ya une expression accrue des β-défensines entériques pour la destruction des sporozoites de C.parvum et chez les cochonts infectées, il ya une expression accrue l'oxyde nitrique synthase inductible (iNOS) intestinale dépendante de NF-κB conduisent à la production des radicaux libres d'oxyde nitrique (NO), se qui traduit par une réduction de développement d'infection. **[1] [75] [77] [80]**

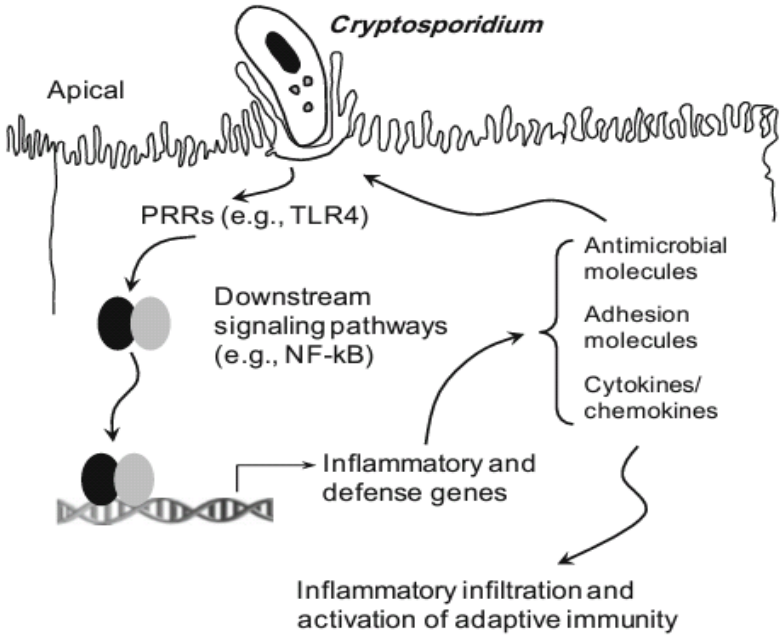


Figure II-3 : La production et libération des molécules effectrices par les cellules épithéliales pour l'activation de l'immunité muqueuse anti-Cryptosporidium**[40]**

- L'invasion par les sporozoites de Cryptosporidium induits l'apoptose des cellules épithéliales infectées et non infectées adjacents dans le but de limiter la propagation d'infection par des mécanismes impliquant les molécules Fas - Fas L, après quelques heures, le parasite limite l'apoptose par l'activation de la voie de signalisation NF-κB

pour la production des molécules anti-apoptotique Bcl-2 et la survivine, mais au cours des stades ultérieurs de l'infection ces facteurs disparaissent et la cellule meurt. **[75][77] [78]**

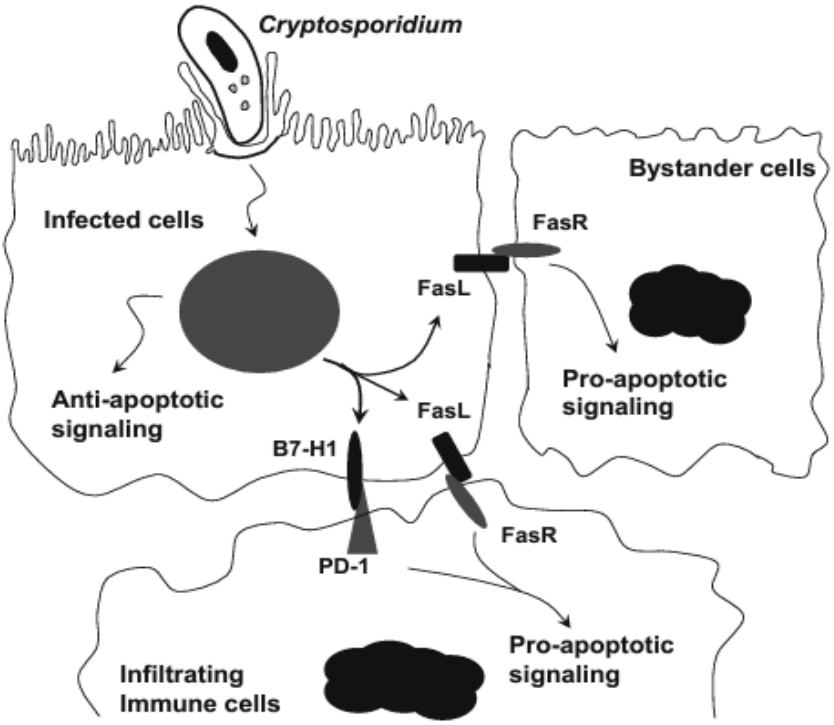


Figure II-4 : Modulation des signaux pro- et anti-apoptotique dans divers types de cellules aux sites d'infection pendant l'infection par Cryptosporidium. **[40]**

- Les entérocytes sont capables de produire certains composants du complément au cours d'infection par C.parvum, il a été constaté que MBL (Mannose BindingLectin) et C4 adhérent aux sporozoites du parasite et ils peuvent directement bloquer leur attachement aux cellules épithéliales ou activer le complexe du complément par la voie classique ou lectine**. [75] [77]**

3. **Les cellules NK (Natural Killer)**, chez quelques hôtes mammifères tells que les souris, l'homme et les agneaux nouveau-nées infectée par Cryptosporidiumspp, il à été démontré in vitro qu'il ya une augmentation dans :

- Le nombre des cellules NK.
- L'expression du récepteur NKG2D sur les cellules NK qui est corréler avec l'augmentation d'expression des ligands NKG2D MICA et MICB à la surface des CEI infectées.
- La fréquence des substances cytotoxiques perforines/granzines sécrétées par les cellules NK induits la cytolyse des CEI.

- L'expression d'ARNm d'IFN-γ était régulée positivement dans l'intestin grêle d'agneaux infectées in vitro. **[1][74] [75] [77]**

-Les cellules NK sont importantes pour le contrôle précoce de l'infection par Cryptosporidiumspp via leur production d'IFN-γ et TNF- α en repense à IL-12, IL-15, IL-18 et IL-2 qui sont sécrétés par les DC, les macrophages et CEI. **[74] [75] [77]**

4. **Les macrophages et neutrophiles**, quelques études sur les animaux nouveau-nées tels que les souris SCID infectées par C.parvum, montrant qu'il ya une augmentation du nombre des cellules polynucléaires macrophages et neutrophiles dans l'infiltra des cellules inflammatoires de la lamina propria et les plaques de payer avec une augmentation des taux d'IFN-γ, ces résultats indiquent le rôle important de ces cellules dans la réponse immunitaire innée contre ce parasite en absence des lymphocytes T et B et cellules NK et aussi qu'ils sont des sources secondaires d'IFN-γ via la réponse à des stimulation d'IL-18 et IL-12. **[70] [75] [77]**
5. **Les mastocytes**, lors une infection par Cryptosporidiumspp, elles s'accumulent au niveau de muqueuse gastrique et sécrètent des médiateurs inflammatoires (l'histamine, cytokines, prostaglandines et leucotérienes) pour le recrutement et la mobilisation des composants cellulaires d'immunité innée et adaptative. **[79]**

L'immunité adaptative : elle s'installe une fois l'immunité innée mis en place, elle fait intervenir deux principaux acteurs sont les lymphocytes T et B, cette réponse immunitaire est spécifique vis-à-vis de l'antigène et l'élimination se fait de façon rapide que l'immunité innée par ce qu'elle possède une mémoire immunologique permettant aux cellules T et B de réagir plus rapidement en cas de réinfection. **[81]**

1. Immunité à médiation cellulaire :

La réponse immunitaire à médiation cellulaire est importante pour la clairance des parasites et développé une résistances à la réinfection chez les animaux immunocompétentes. **[81]**

Chez les veaux in vitro, des analyses immunohistologiques d'un tissu intestinal infecté par C.parvum révélé une augmentation du nombre de cellules TCD4+ et TCD8+ dans les villosités intestinales, la lamina propria et les plaques de payer. **[81]**

Chez les souris immunodéficients combinée sévères (SCID) dépourvues de cellules T et B, cellules T développent une cryptosporidiose chronique après l'infection, mais chez les souris dépourvues de cellules B seulement l'infection est moins sévère. **[82]**

Des études chez quelques hôtes mammifères nouveau-nées comme : les souris, les veaux et l'homme montré que :

- Chez les hôtes déficientes en CMH 2 manquent la fonction immunitaire des lymphocytes TCD4+ et développent une cryptosporidiose sévère, alors que chez les hôtes déficientes en CMH 1 manquent la fonction immunitaire des lymphocytes TCD8+ mais n'ont pas développent une infection, alors les lymphocytes T CD4+ sont très important dans la clairance de l'infection cryptosporidienne. **[82]**
- L'interaction entre les molécules de surface cellulaire CD40 et son ligand CD154 sur la surface de cellule T induit à la production de cytokines et favorise les réponses de lymphocytes T. **[83]**
- Les cellules TCD4+ Th1 sécrètent IFN-γ en activant la phagocytose par les macrophages et sécrètent IL-12 en activant les cellules TCD8+ pour déclenché une activité cytotoxique contre les entérocytes endommagés par C.parvum, les cellules Th1 capable de reconnaître directement les entérocytes endommagés et sécrètent l'IFN-γ pour déclenché une réaction inflammatoire conduisant à l'éradication de ces cellules. **[68] [82] [83] [84]**
- Chez les hôtes immunocompétentes, les cellules TCD4+ Th2 sécrètent l'IL-4, IL-5 et TGF-β en activant les cellules B pour différencient en plasmocytes producteurs des immunoglobulines spécifiques à C.parvum, ces anticorps neutralisants ont un effet protecteur contre la réinfection. **[68] [82] [83] [84]**

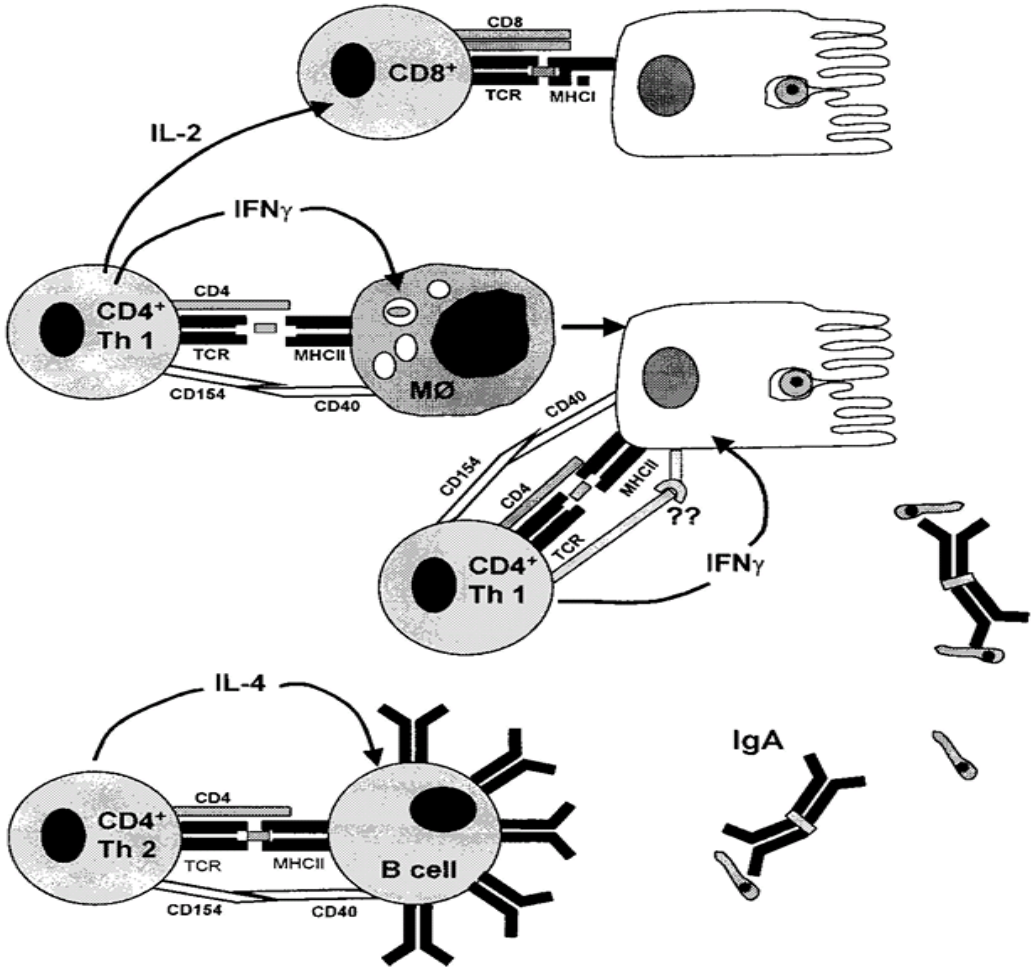


Figure II-5 : Les fonctions immunitaires des lymphocytes TCD4+ (Th1/Th2) et TCD8+ en réponse contre l'infection cryptosporidienne. **[82]**

2. Immunité à médiation humorale :

Quelques études chez les souris nouveau-nés déficient en lymphocytes B montrent qu'ils peuvent éliminer l'infection par C.parvum, alors l'immunité humoral seul n'est pas suffisent pour contrôler l'infection entérique par C.parvum et que les immunoglobulines produits par les lymphocytes B différencies sert une protection contre la réinfection. **[68]**

Chez les individus infectés par Cryptosporidiumspp, il ya une production accrue d'immunoglobulines spécifiques du parasites de différents classes IgG, IgM et IgA ont été détectées dans la muqueuses des humains et des animaux, les anticorps de classe IgAmuqueuses peuvent aider la réponse immunitaire cellulaire en recouvrant les surfaces parasitaires dans des stades infectieux et en empêchent leur fixation aux cellules épithéliales. **[68] [80] [40]**

Les résultats de quelques études chez des animaux infectées par C.parvum montrée que le développement de C.parvum est réduit après l'administration des anticorps anti-cryptosporidium (L'inhibition de développement parasitaire), aussi après l'immunisation avec des antigènes dérivées d'oocystes de cryptosporidium ils sont remarquer la présence des différents classes d'anticorps spécifiques anti-cryptosporidium permettent la réduction de développement de parasite et les symptômes d'infection. **[68] [80] [85]**

Chez les patients qui ont des déficiences congénitales dans la production d'anticorps, ils présentent une cryptosporidiose chronique. **[86] [87]**

Chapitre III

Partie expérimentale

I. Objectif :

L'objectif de la présente étude est la recherche et la détection de Cryptosporidium.sp dans des prélèvements intestinales recueillis à partir des petits ruminants « les caprins » dans la région de Birine, wilaya de Djelfa et l'évaluation de certain facteurs de risque liés à cette pathologie (cryptosporidiose).

II. Période et lieu de l'étude :

Notre étude a été effectuée dans la région de Birine Wialaya de Djelfa durant la période allat de mois de Février jusqu'au mois de Mai 2022.



Figure III-1 : carte géographique de la région de Birine wilaya de Djelfa (googleearth).

L'identification des oocystes de Cryptosporidium.sp a été réalisée aux niveaux du laboratoire de biologie de l'université de YAHAI FARES de l'université de Médéa sur une période de trois mois.



Figure III-2 : Laboratoire de biologie de l'université de YAHAI FARES de l'université de Médéa (Photo personnelle, 2022).

III. Matériel et méthodes :

I. Enquête :

III.1. Matériels :

Les informations ont été recueillies par le biais d'un questionnaire tiré à 24 exemplaires pour les vétérinaires praticiens.

III.2. Méthode :

III.2.1. Modalités du recueil des données :

L'enquête a été réalisée par des rencontres directes, 24 questionnaires ont été récupérés auprès des vétérinaires.

De façon générale, ce questionnaire a fait appel pour la majorité des questions au système de choix multiples. Le vétérinaire n'ayant qu'à cocher la case correspondante à son choix, ce système présent l'intérêt de permettre une meilleure compréhension de ces maladies parasitaires chez les ruminants notamment la cryptosporidiose chez les caprins.

III.3.2. Mise en forme et saisie des données :

Après collecte des questionnaires remplis, nous les avons classés selon les réponses obtenues pour chacun des paramètres traités L'ensemble des données recueillies ont été saisies et stockées dans un fichier Microsoft Excel.

III.4.Paramètres étudiés :

- Région de l'étude
- Les pathologies néonatales de l'agneau,
- Les diarrhées constatées chez les agneaux
- La fréquence des diarrhées néonatales selon L'âge.
- La saison que la diarrhée néonatale est élevée.
- La mortalité des agneaux lorsque la déshydratation
- Hygiènes des bergeries (zriba).
- Type d'élevage.
- La fréquence de cette pathologie chez les agneaux.

- Le concentré reçoit par les troupeaux.
- recours régulière audiagnostic de laboratoire.
- Traitement.
- Prévention.

II. Etude histologique :

Matériel :

Matériel biologique :

Notre étude a portée sur la recherche des Cryptosporidium.sp sur 09 prélèvements intestinales des caprins d'âge différents de 01 à 04 ans dans la wilaya de Djelfa, la région de Birine.

Matériel non biologique (de laboratoire) :

- Gants stériles.
- L'étuve.
- Distributeur de paraffine.
- Les moules.
- Les cassettes.
- Une pincette / un petit ciseau.
- Les lames et les lamelles.
- Un microtome.
- Bain marie.
- Réfrigérateur.
- Bécher.
- Pipettes jetables en plastique.
- Microscope optique.
- Slidedryingbench (electrothermal).

Réactifs et colorants :

Les réactifs et colorants utilisés sont les suivants :

- Solution de chlorure du sodium 0.9%.
- L'eau distillée.
- L'eau robinet.

- Eau formolé à 10%.
- Butanol.
- L'alcool à 70%, 95% et 100%.
- Paraffine pure.
- Xylène.
- Les colorants histochimiques : hématoxyline /éosine.

Autre matériels :

- Glacière pour l'acheminement des prélèvements vers le laboratoire à 4°C.
- Pots en plastique propres pour la préparation des bains d'alcool, butanol, Xylène, l'eau distillée et la solution de chlorure du sodium 0.9%.
- Etiquettes autocollantes pour numéroté les pots.
- Tasses en verre.
- Marqueur.

Méthode :

Technique de prélèvement :

- Les prélèvements intestinales ont été effectués dans l'abattoir municipal de Birine, après le processus d'abattages des chèvres, nous commençons à prélever des échantillons intestinales et en essayant d'obtenir des zones intestinales les plus rouges.
- Après l'obtention des prélèvements intestinaux, on les mit dans des bains des solutions de chlorure de sodium 0.9% pour la conservation.
- Les prélèvements ont été acheminés vers le laboratoire de biologie de l'université de Médéa, chaque prélèvement a été identifié par une étiquète.

Méthode de recherche des cryptosporidies :

Prélèvement et fixation :

- On mit des gants.
- Par une pincette et un petit ciseau, on fait des coupes horizontales des 09 prélèvements intestinales.



Figure III-3 : coupe horizontale d'un prélèvement intestinal(Photo personnelle, 2022).

- On fait le nettoyage de matériel utilisé après chaque coupure, aussi le nettoyage des prélèvements avec l'eau robinet.

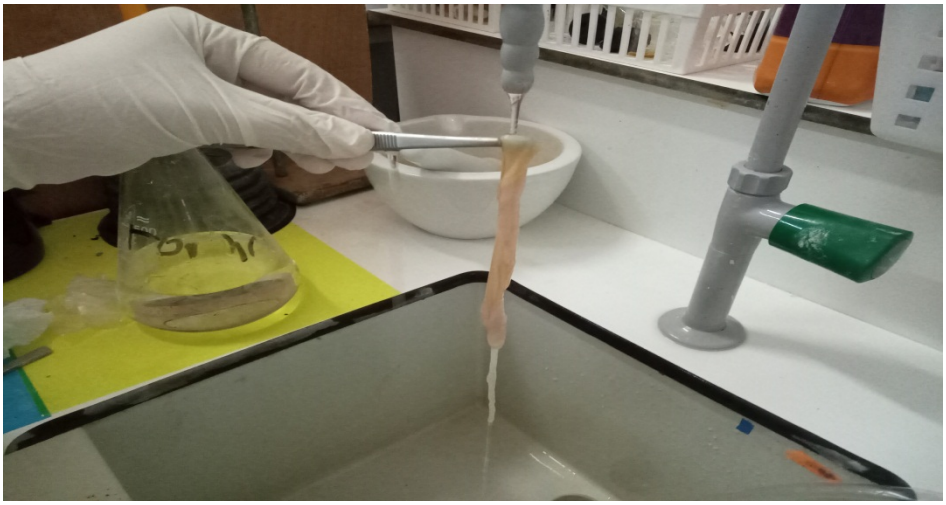


Figure III-4 : le nettoyage de prélèvement avec l'eau de robinet (Photo personnelle, 2022).

- Après on prend des petits volumes prélèvements délicatement afin de ne pas dégrader l'organisation tissulaire.

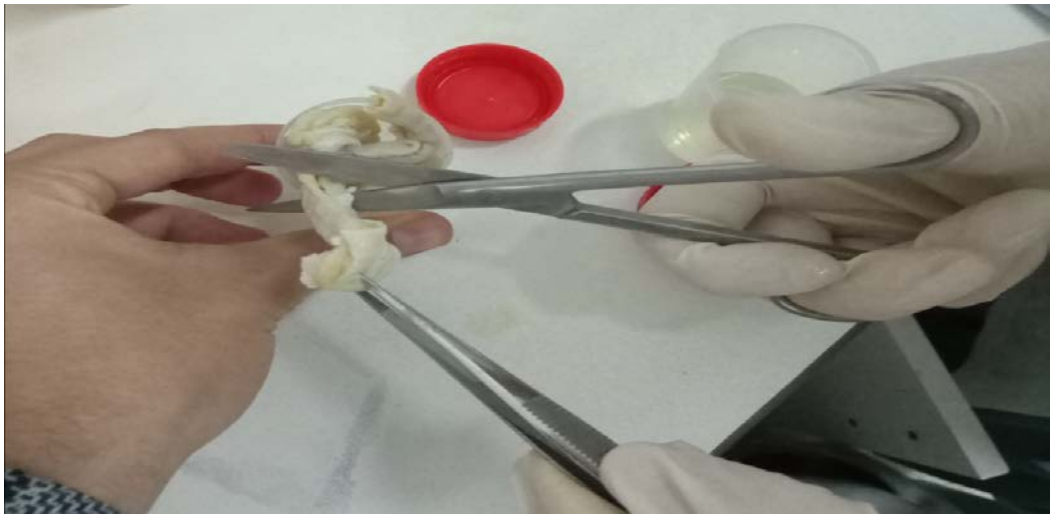
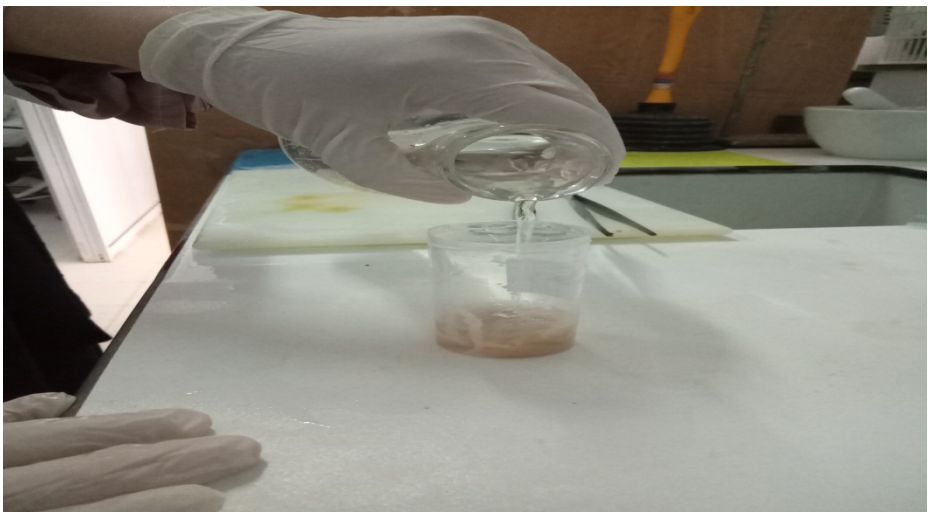


Figure III-5 : une coupure pour prend d'un petit volume du prélèvement (Photo personnelle, 2022).

- on mit ces prélèvements immédiatement dans sa propre pot en plastique et on remplit avec une solution préparé d'eau formolé à 10% (le volume de formol est égale le double du volume de prélèvement).



FigureIII-6 : remplissage de boit à prélèvement avec la solution d'eau formolée à 10% (Photo personnelle, 2022).

- On laisse ces prélèvements intestinales dans le formol pendant 24h pour leurs fixation par ce qu'il pénètre rapidement et fixent lentement.

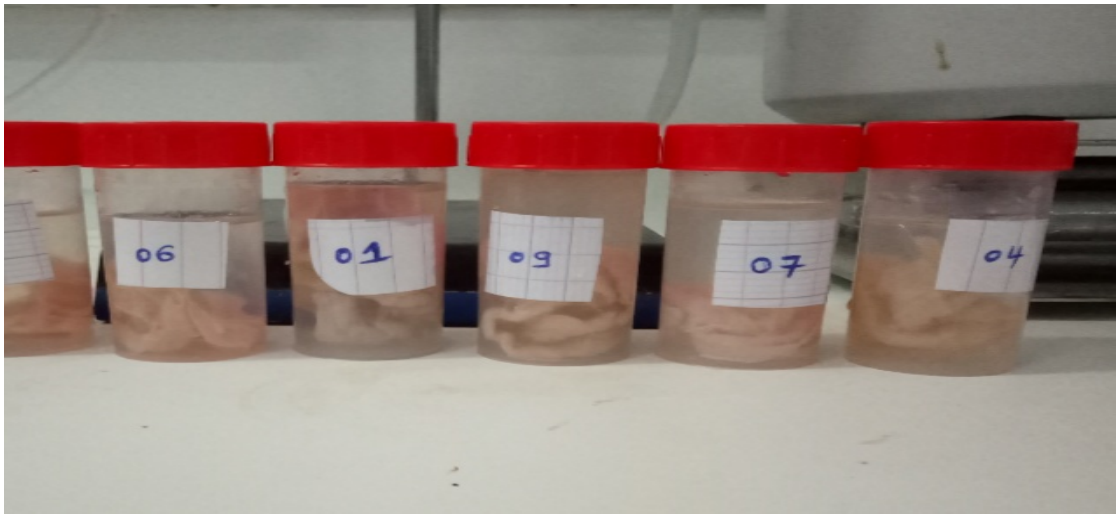


Figure III-7 : boites à prélèvements avec la solution d'eau formolée à 10% (Photo personnelle, 2022).

Déshydratation :

- Le rinçage : on mit toutes les boites sous l'eau robinet et on laisse pendant 02 heures pour nettoyer les prélèvements et éliminer du formol (le formol n'est pas miscible pour le paraffine), cette étape préparer les prélèvements pour les mettre dans l'alcool éthylique.



Figure III-8 : le nettoyage de prélèvements etl'élimination du formol par l'eau robinet (Photo personnelle, 2022).

- Après en préparé des bains d'alcool à degré de concentration croissant 70%, 95% et enfin alcool absolu 100%.

- pour chaque prélèvement, en va le mettre à chaque fois dans un bain commençant par l'alcool dilué 70% jusqu'à l'alcool absolu 100%.
- En va laisser les prélèvements pendant 10min dans les bains d'alcool dilué 70%, 95% et pendant 20min dans les bains 100 % d'alcool éthylique.



Figure III-9 : l'alcool éthylique absolu 100 %, alcool dilué 70% et 95% (Photo personnelle, 2022).

- Le but de cette étape et l'élimination d'eau intracellulaire par l'alcool et préparer pour l'étape d'imprégnation.

Imprégnation :

- En préparer des bains du butanol et on mit les prélèvements dans ces bains et laisser pour 08 heures (l'utilisation du butanol est pour éliminer les traces d'alcool absolu par ce qu'il n'est pas miscible pour le paraffine, le paraffine est hydrophobe).

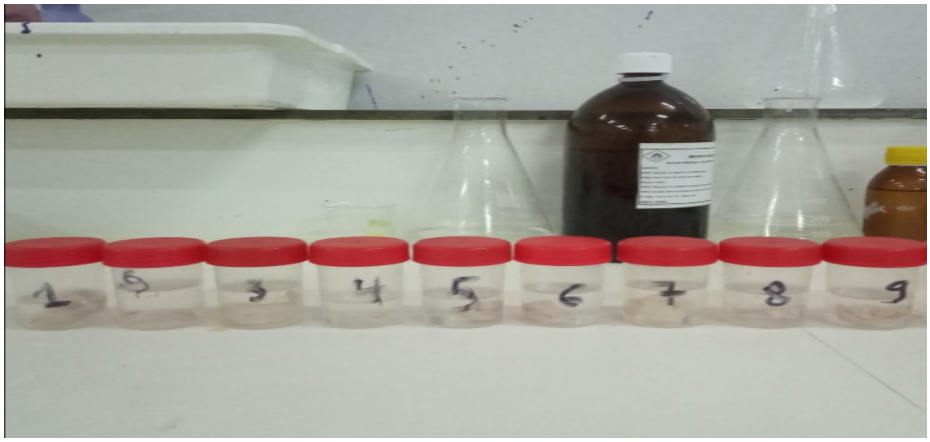


Figure III-10 : boites à prélèvements avec le butanol (Photo personnelle, 2022).

- On mit la paraffine dans un distributeur de paraffine et en laisse pendant 01 heure et 30 min à 60°C pour qu'elle devienne à l'état liquide.
- Après on prend les bains du butanol et en mit chaque prélèvement avec le butanol dans des tasses en verre.
- A l'aide d'un distributeur de paraffine en ajoute la paraffine dans les tasses en verres pour obtenir de butanol-paraffine.

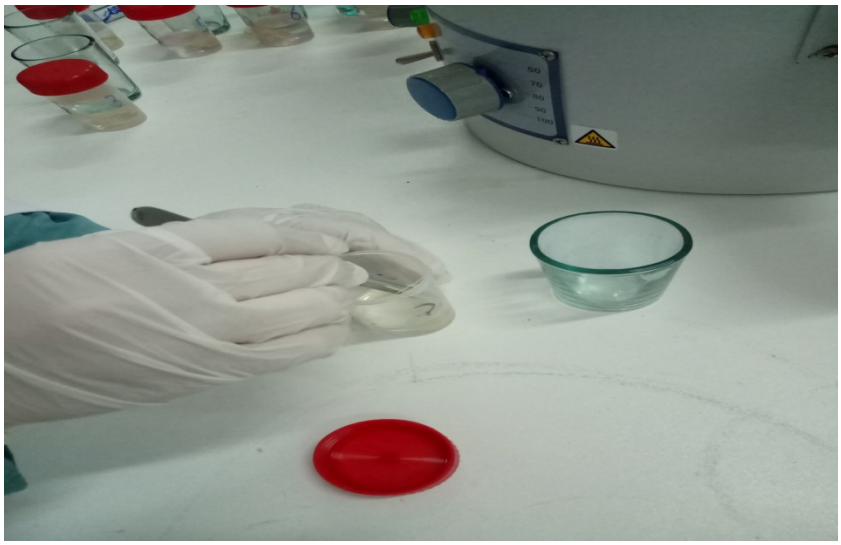


Figure III-11: mettre le prélèvement dans une tasse en verre avec le butanol (Photo personnelle, 2022).



Figure III-12 : Le distributeur de paraffine régler à 60°C (Photo personnelle, 2022).

- On laisse les tasses en verre du butanol-paraffine dans l'étuve pendant 02 heures à une température de 60°C (L'utilisation d'étuve est pour le séchage et dégivrer le paraffine).



Figure III-13 : les tasses en verre à butanol-paraffine dans l'étuve.



Figure III-14 : l'étuve régler à 60°C pendant 02 heures (Photo personnelle, 2022).

- il faut alors d'éliminer la solution butanol-paraffine et préparer les prélèvements pour l'étape d'inclusion de paraffine pure.

Inclusion :

- Préparer les moules et numéroter les cassettes pour l'organisation et faciliter le travail.

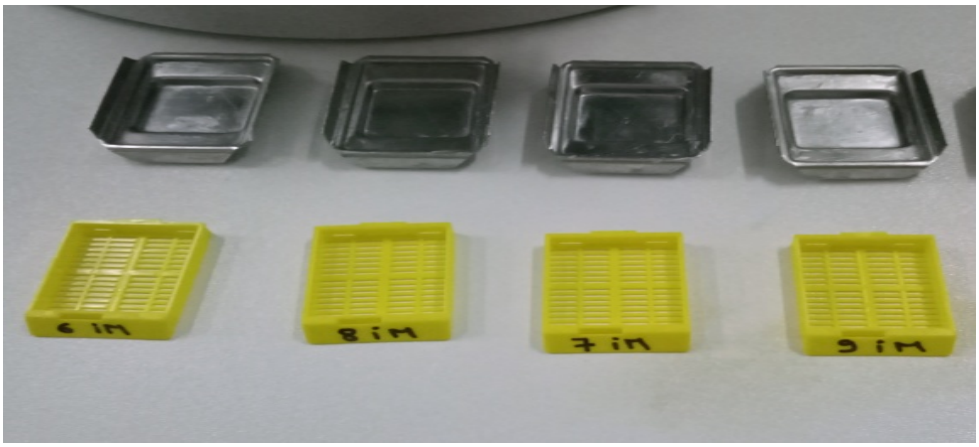


Figure III-15 : les moules et les cassettes (Photo personnelle, 2022).

- Après l'élimination de la solution paraffine, on mit les prélèvements dans d'autres tasses en verre mais dans cette étape on ajoute de paraffine pure à l'aide d'un distributeur de paraffine et on laisse la paraffine jusqu'elle devienne solide après on les mit dans l'étuve à 60°C pendant 02 heures (pour éliminer complètement les traces du butanol).

- Après on changé la solution de paraffine avec d'autre nouveau paraffine pure, on laisse la paraffine jusqu'elle devienne solide et pour une deuxième fois on les mit dans l'étuve à 60°C pendant 02 heures.
- On prend 03 biopsies de chaque prélèvement.
- Rapidement par une pincette on mit chaque biopsie dans leur propre moule et on ajoute la paraffine après en placé la cassette sur le moule.

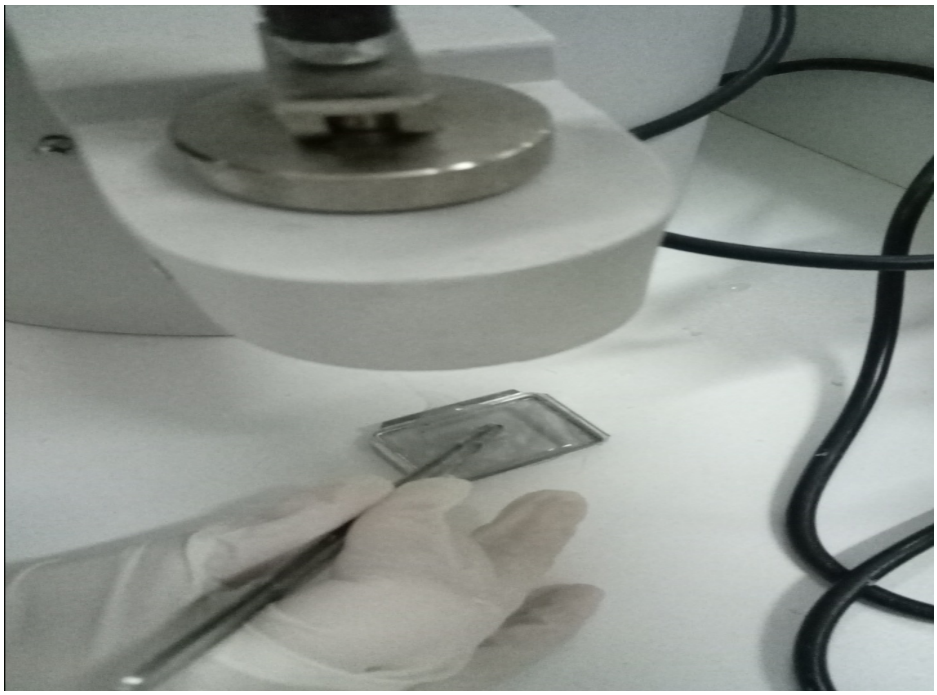


Figure III-16 : mettre la biopsie dans leur propre moule à paraffine (Photo personnelle, 2022).

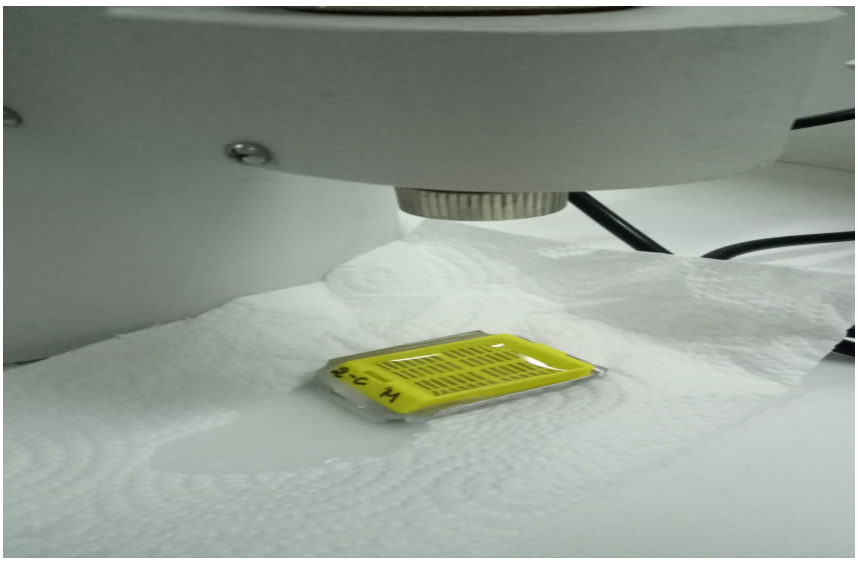


Figure III-17 : mettre la cassette sur le moule (Photo personnelle, 2022).

- Dans la fin de cette étape des moules de paraffine-biopsie sont obtenus.

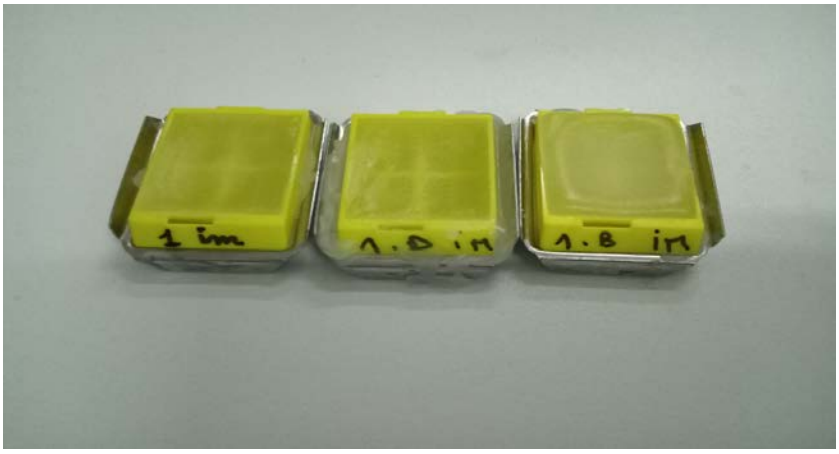


Figure III-18 : Les moules de paraffine-biopsie (Photo personnelle, 2022).

Mis en bloc :

- On laisse les moules refroidir au réfrigérateur pendant 01 min ou 03 min maximum, puis on le sort et on le mit dans un bain d'eau pendant 01 min.
- Après en fait le démoulage pour obtient un bloc de paraffine.
- On mit les blocs de paraffine pure dans un congélateur pendant tout la nuit (le refroidissement) pour devient plus rigide et obtient dure (le paraffine infiltre toutes les cellules qui composant le tissu).



Figure III-19 : le démoulage pour obtient un bloc de paraffine (Photo personnelle, 2022).

Coupes et étalement :

- Réalisation de la coupe histologique avec un microtome, dont l'épaisseur est 7 µm

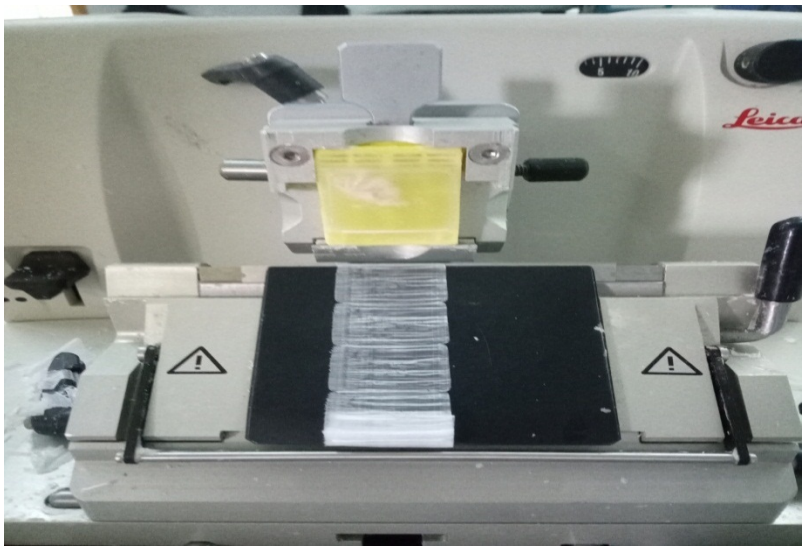


Figure III-20 : réalisation des coupes par un microtome (Photo personnelle, 2022).

- Étalement sur une lame on utilisant des gouttes d'eaux distillée
- On mit les lames sur un chauffe lame (slidedryingbench) pour séchée et fixée les coupes sur la lame.



Figure III-21 : séchage des lames avec une chauffe lame (Photo personnelle, 2022).

Coloration :

- On mit les lames dans un panier pour la coloration

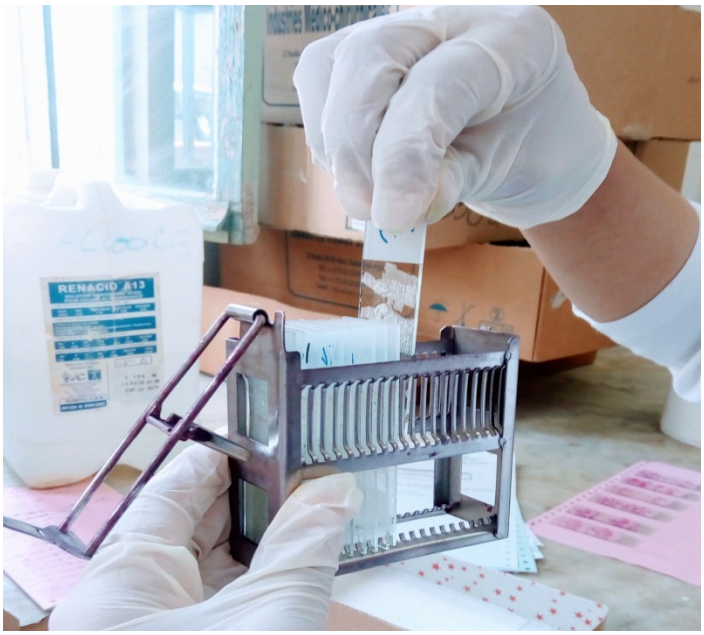


Figure III-22 : mettez les lames dans le panier (Photo personnelle, 2022).

- Coloration avec une appareille de coloration dont les colorant utilisé sont : bleu de toluidine, hématoxyline, éosine



Figure III-23: coloration des lames (Photo personnelle, 2022).

Montage :

- Montage entre lame/ lamelles à l'aide des gouttes d'eukit.



FigureIII-24 : montage avec l'eukitt (Photo personnelle, 2022).

- On laisse les lames séché dans une température ambiante pendent quelque minutes (séchage à l'air).

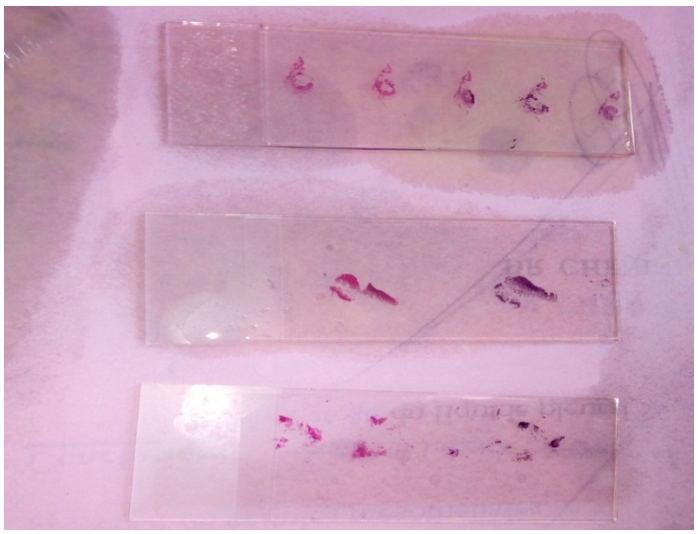


Figure III-25 : séchage des lames à l'air (Photo personnelle, 2022).

Lecteur :

La lecture se fait au microscope à l'objectif x4, x10, x40 et x100(à l'immersion)

Cette technique permet de visualiser le parasite en cours de multiplication dans les entérocytes. Le parasitisme conduit à une altération du pole apical des entérocytes avec disparition de la bordure en brosse [95]. Cependant ces lésions, non
Pathognomoniques, ne permettent pas de confirmer le diagnostic de cryptosporidiose.

N.B : la lecture doit être fait sur toute la surface de la lame de haut en bas et de gauche à droite

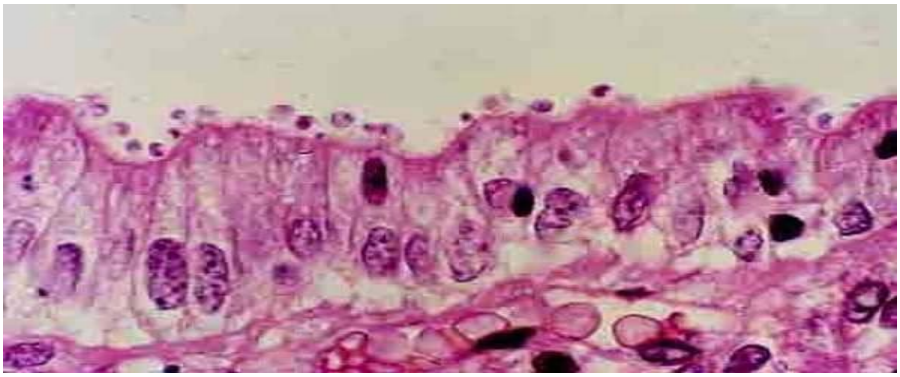


Figure III-26: Cryptosporidiose intestinale. Noter la présence des parasites au pôle apical des entérocytes, *400 [88] Anonyme.

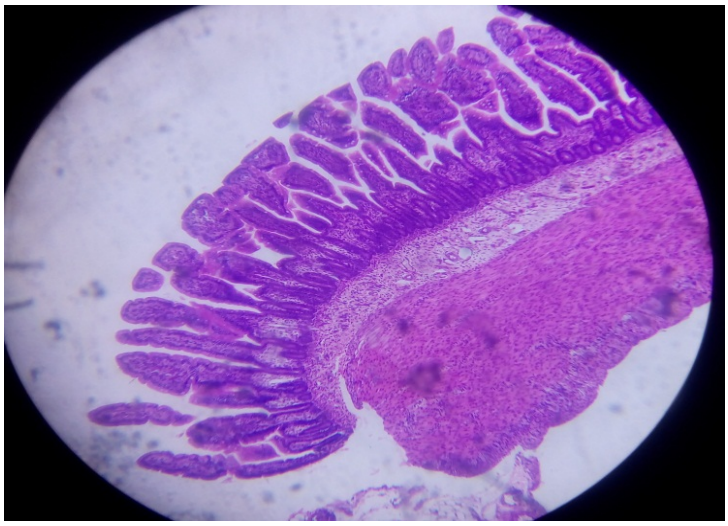


Figure III-27 : une section de jéjunum d'un mouton après coloration par H&E grossissementsx10 (Photo personnelle, 2022).



Figure III-28 : une section de duodénum d'un mouton après coloration par H&E grossissementsx10 (Photo personnelle, 2022).

Résultats et discussion

Résultats et discussion

IV. Résultat:

TRAITEMENT DES DONNEES DU QUESTIONNAIRE :

Question n° 1 : Vous exercez dans la wilaya de :

Les réponses obtenues sont présentées dans le tableau IV-1.

Tableau IV-1 : nous avons obtenu des réponses à partir la Wilaya de Médéa.

Région	Centre
Wilaya	Médéa

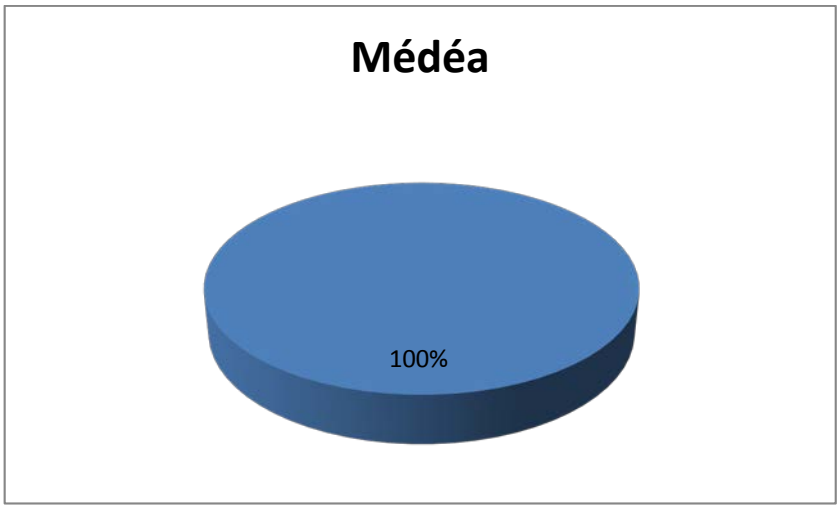


Figure IV-1 : Région d'étude

Question n°2 : classez par ordre de fréquence les pathologies néonatales des chevreaux :

Tableau IV-2 : Fréquence des pathologies néonatales de l'agneau sur le terrain.

Fréquence de l'infection néonatale de l'agneau	Nombre de réponses	pourcentage
Diarrhée néonatale	7	35 %
Infection respiratoire	6	30 %
Omphalite	5	25 %
Arthrite	2	10 %

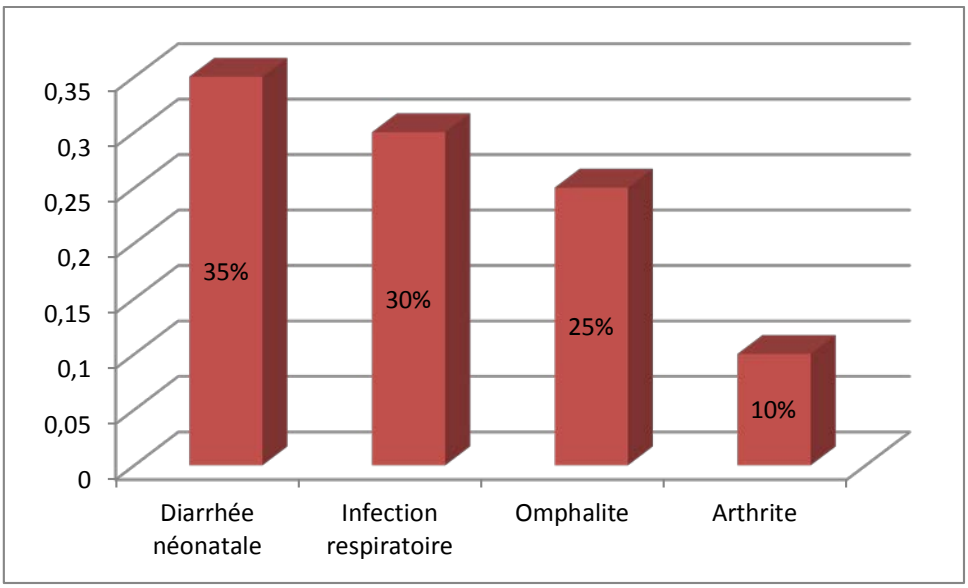


Figure IV-2: fréquence des pathologies néonatales.

Question n°3 : Les diarrhées chez les chevreaux de 1à 60 jours sont :

Tableau IV-3 : Fréquence de diarrhées néonatales sur terrain.

Fréquence de diarrhée néonatale au terrain	Nombre de réponses	pourcentage
Fréquente	11	55 %
Peu fréquente	5	25 %
Sporadique	4	20 %

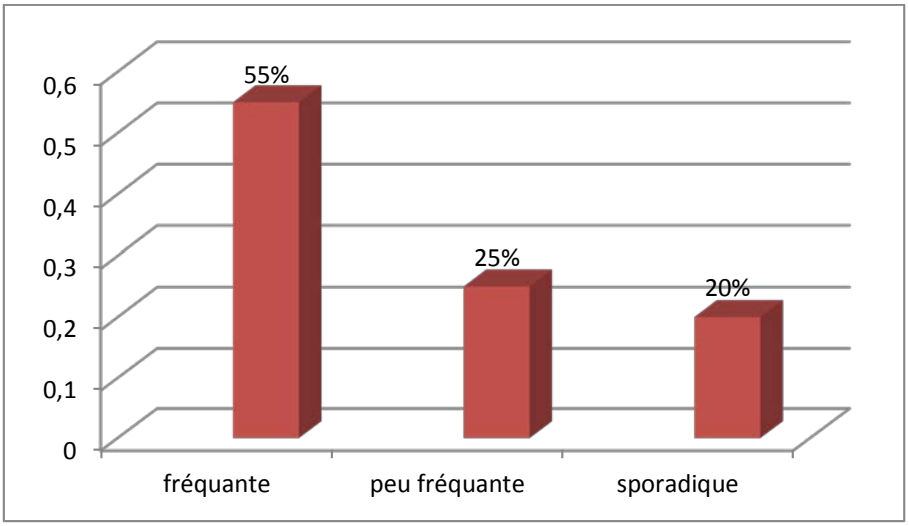


Figure IV-3: Fréquence de diarrhées néonatales sur terrain

Question n°4 : Les diarrhées néonatales sont plus fréquentes chez les chevreaux âgés de :

Tableau IV-4 : Fréquence des diarrhées selon l'âge de l'agneau.

Fréquence de diarrhée en fonction de l'âge	Nombre de réponses	pourcentage
1à7 jours	6	30 %
7à15jours	8	40 %
15à30jours	2	10 %
Autres	4	20 %

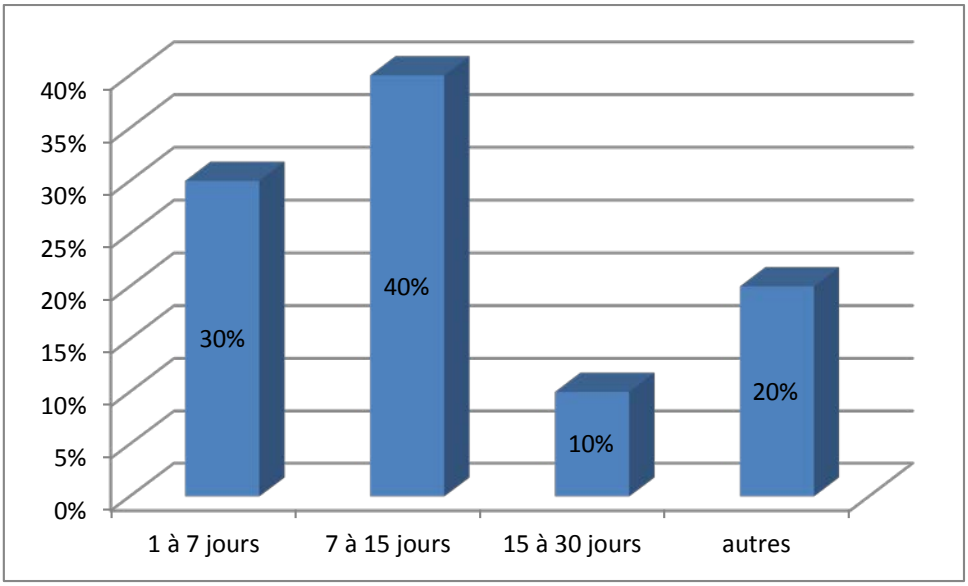


Figure IV-4 : Fréquence des diarrhées selon l'âge des chevereau

Question n°5 : Durant quelle saison constatez-vous que la diarrhée néonatale est élevée :

Tableau IV-5 : Fréquence des diarrhées selon la saison.

Fréquence de diarrhée en fonction de saison	Nombre de réponses	pourcentage
Hiver	8	40 %
Printemps	6	30 %
Eté	2	10 %
Automne	4	20 %

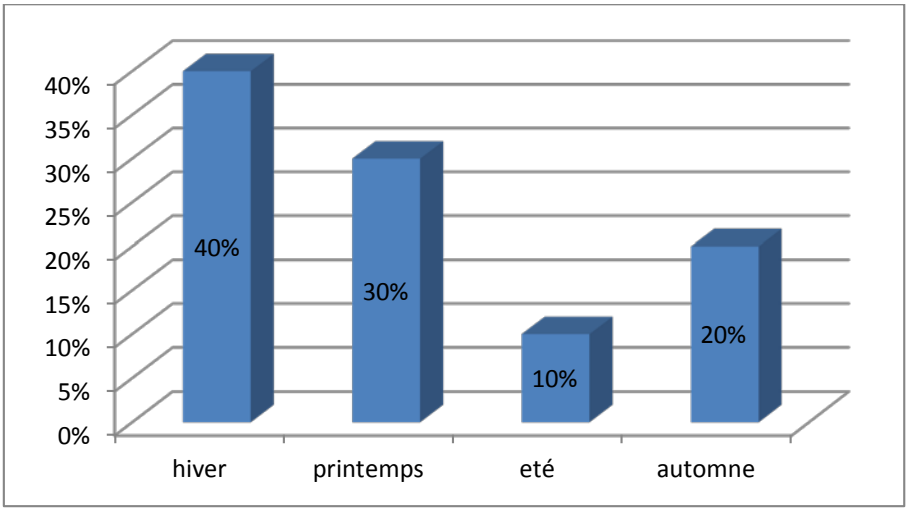
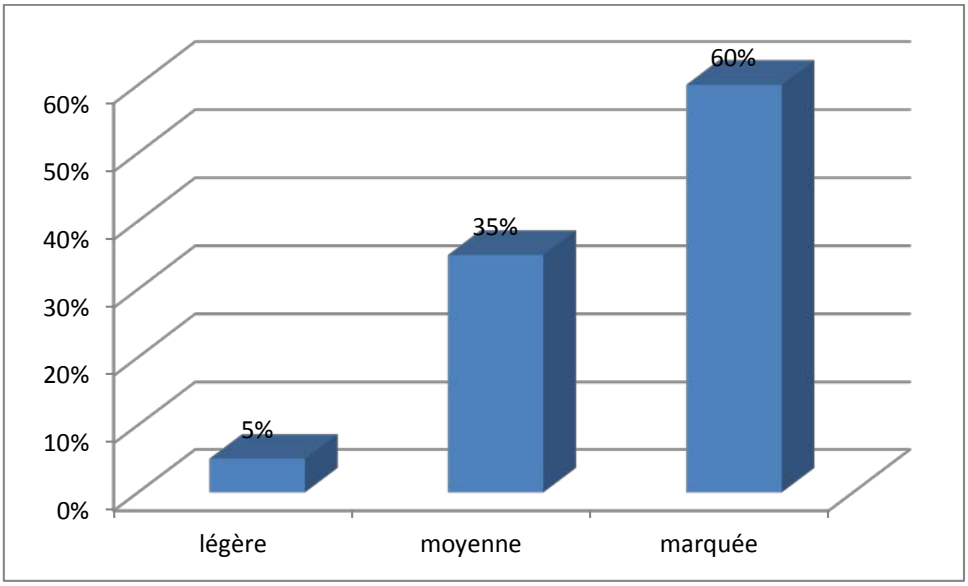


Figure VI-5: Fréquence des diarrhées selon la saison.

Question n° 6 : La mort de chevre est constatée lorsque la déshydratation est :

Tableau VI-6. Fréquence de déshydratation lorsque l'agneau est mort.

La déshydratation	Nombre de réponses	pourcentage
Légère	1	5 %
Moyenne	7	35 %
Marquée	12	60 %



FigureVI-6: Fréquence de déshydratation lorsque l'agneau est mort.

Question n° 7 : Hygiène des bergeries :

Tableau VI-7 : Fréquence des diarrhées selon l'hygiène des bergeries.

Hygiène des bergeries	Nombre de réponses	pourcentage
Propre	0	0 %
Mauvaise	14	70 %
Moyenne	6	30 %

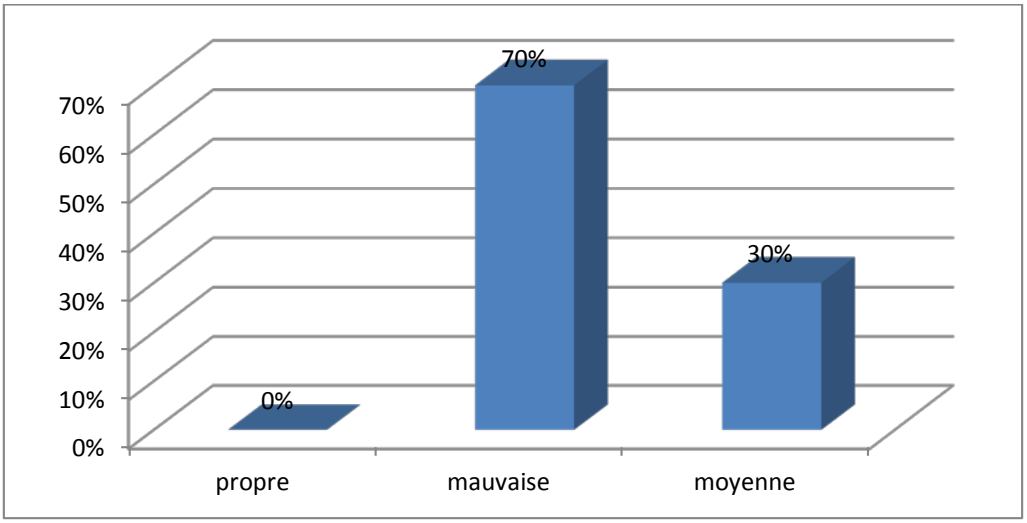


Figure IV-7 : Fréquence des diarrhées selon l'hygiène des bergeries.

Question n° 8 : Type d'élevage :

Tableau IV-8 : Fréquence des diarrhées selon le type d'élevage.

type d'élevage	Nombre de réponses	pourcentage
Extensif	12	60 %
Intensif	8	40 %

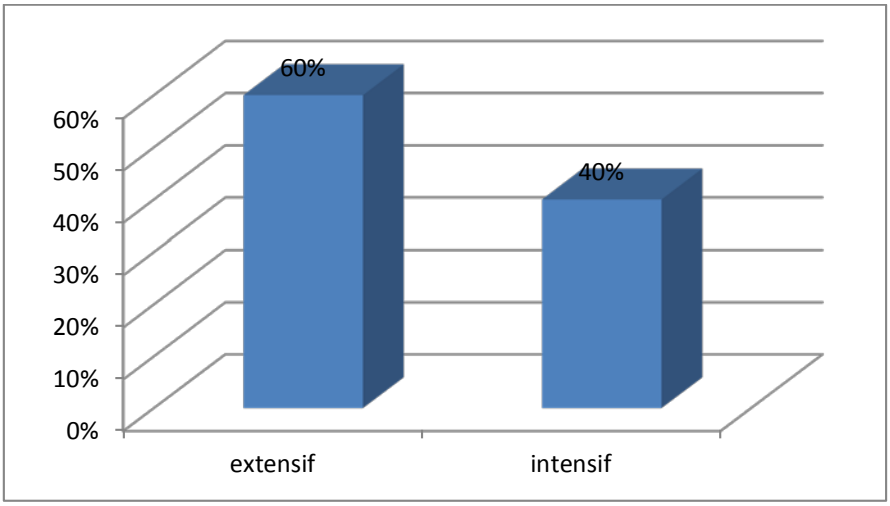


Figure IV-8 : Fréquence des diarrhées selon le type d'élevage.

Question n° 9 : Cette pathologie survient le plus souvent chez les chevereaux issus:

Tableau IV-9 : Fréquence des diarrhées selon les agneaux issus de brebis vaccinée contre l'entérotoxémie ou non.

Les agneaux issus	Nombre de réponses	Pourcentage
Brebis vaccinée contre l'entérotoxémie	2	10 %
Brebis non vaccinée contre l'entérotoxémie	18	90 %

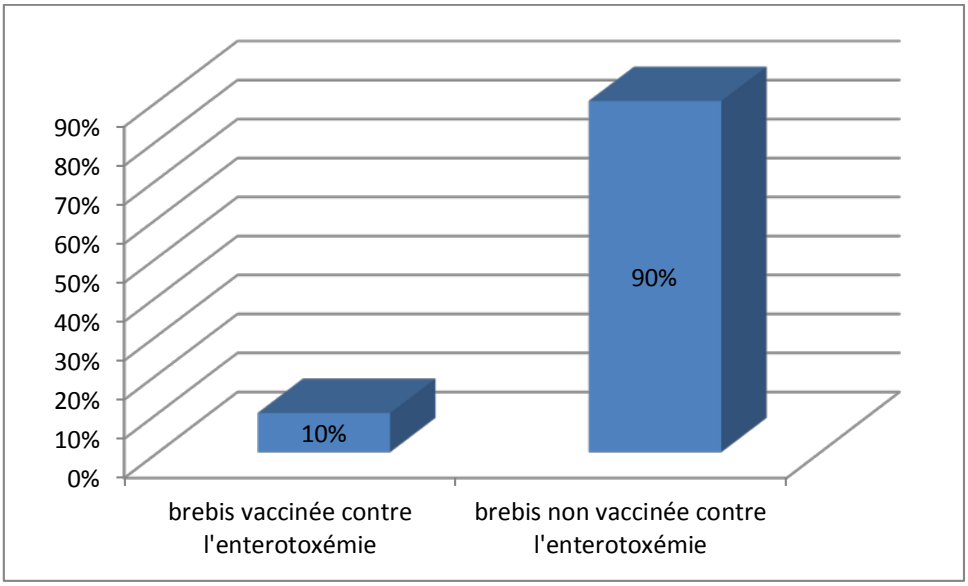


Figure IV-9 : Fréquence des diarrhées selon les chevereaux issus de brebis vaccinée contre l'entérotoxémie ou non.

Question n° 10 : Le troupeau reçoit un concentré :

Tableau IV-10 : Fréquence des diarrhées selon que le troupeau reçoit un concentré.

Le troupeau reçoit un concentré	Nombre de réponses	pourcentage
son+ mais	6	30 %
mais seul	4	20 %
son seul	4	20 %
orge seul	3	15 %
son+ orge	2	10 %
son+ orge+ mais	1	5 %

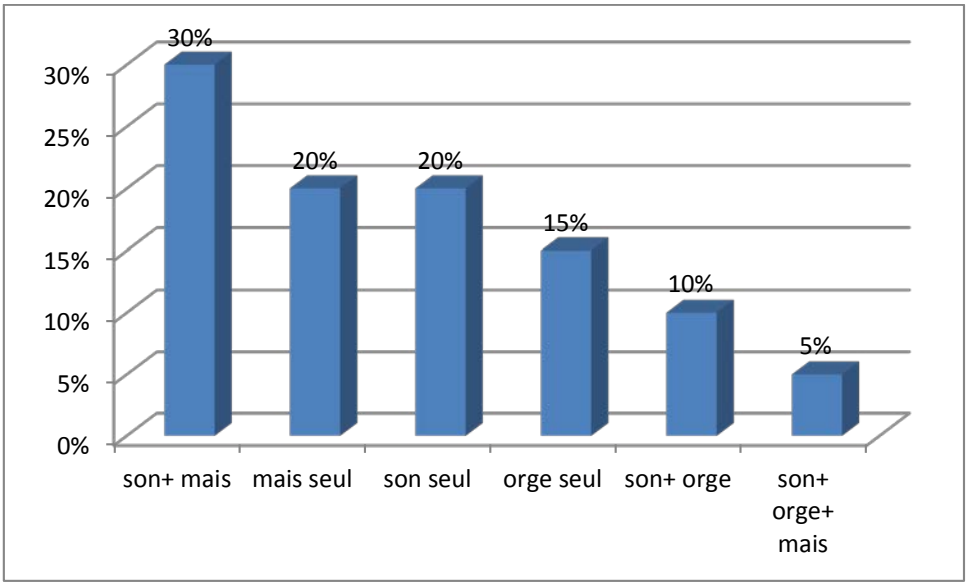


Figure IV-10 : Fréquence des diarrhées selon que le troupeau reçoit un concentré

Question n° 11 : avez-vous régulièrement recours au diagnostic de laboratoire :

Tableau IV-11 : Répartition des réponses selon que le vétérinaire fait le recours au laboratoire ou non.

Recours au laboratoire	Nombre de réponses	pourcentage
Fréquemment	3	15 %
Jamais	17	85 %
Quelque fois	0	0 %
Rarement	0	0 %

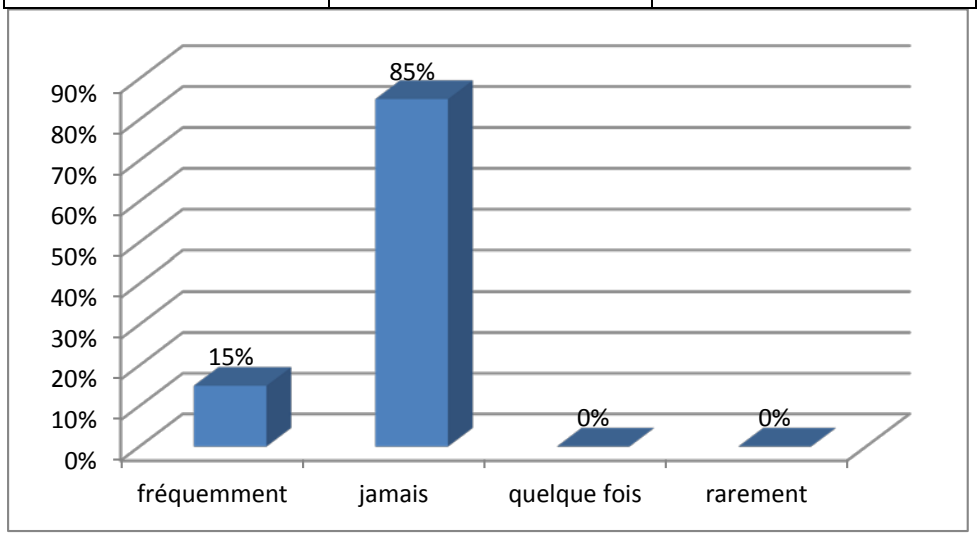


Figure IV-11: Répartition des réponses selon que le vétérinaire fait le recours au laboratoire ou non.

Question n° 12 : Le traitement que vous préconisez le plus souvent est :

Tableau IV-12 : Répartition des réponses selon que le vétérinaire préconise le traitement.

Le traitement	Nombre de réponses	pourcentage
Réhydratant+sulfamide	11	55 %
Réhydratant+sulfamide +antibiotique	6	30 %
Réhydratant+ antibiotique	3	15 %

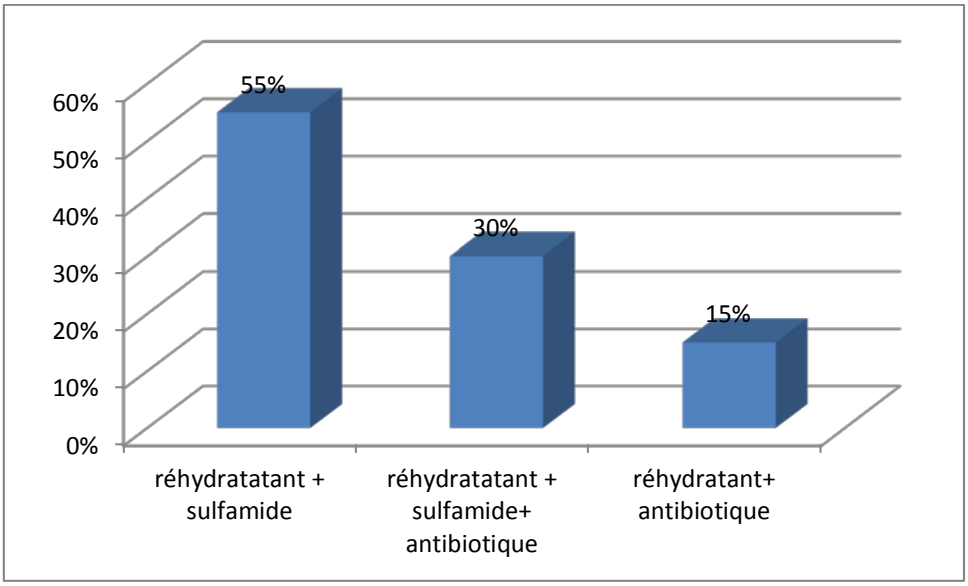


Figure IV-12 : Répartition des réponses selon que le vétérinaire préconise le traitement.

II. Prévalence de la cryptosporidiose :

La recherche de *Cryptosporidiumsp*pendant la période de l'étude dans les 9 prélèvements de l'intestin de caprins étudiés sont rapportés dans le tableau suivant :

Tableau III- 04 : Résultat global de la recherche de *Cryptosporidiumsp.*

Les prélèvements	Age	résultat
1)	1 an	négative
2)	2 ans	négative
3)	1 an	négative
4)	3 ans	négative
5)	2 ans	négative
6)	1 an	négative
7)	3 ans	négative
8)	1 an	négative
9)	4 ans	négative

Les résultats ci-dessus montrent que la recherche du parasite dans les intestin descaprins à déférents âges sont 100% négative. Par ce que Les prélèvements (les biopsie) sont récoltée à une manière aléatoire, sans prend en considération le sexe et l'état pathologique des échantillons prélevée (diarrhéique ou non).

Discussion :

Dans le présent travail, le diagnostic de Cryptospridium sp est basé sur la détection des oocystes dans les échantillons fécaux des agneaux dont par la méthode histologique.

Nos résultats montrent une prévalence très faible en utilisant la technique histologique, ces résultats sont à peu près proches de ceux rapportés par Sharma et al en utilisant la technique ELISA et la coloration de ZN respectivement, mais sont loin de celui trouvé par Xioa et al (78,3 %) en utilisant ELISA chez les agneaux âgés entre 2 et 3 semaines.

Nos observations sont semblables à celles de Katanika et al et Marks et al qui ont remarqué que la technique histologique a une sensibilité faible pour la détection de

Cryptosporidiumsp. par rapport la technique ELISA, cela peut être probablement dû au fait du non-respect des étapes de concentration au moment du traitement des échantillons fécaux.

Elle est également moins sensible lors des excrétions oocystales minimes, d'ailleurs la consistance de la matière fécale joue un rôle important dans la détection des oocytes ce qui en accord avec Fusya qui motionne que la prévalence du cryptosporidiose diminue lorsque la matière fécale est solide formant des particules compactes liées aux oocystes.

Cozon et al ,ont constaté que la méthode histologique et de ZN colore seulement 3 -13% des oocystes, d'ailleurs Garcia et al ont suggéré que cette technique est au moins dix fois moins sensible que la technique ELISA.

Dans cette étude, la sensibilité et la spécificité de la méthode microscopique ont été testées par rapport à la technique d'Elisa, la méthode microscopique s'est montrée moins efficace pour la détection des oocystes de *Cryptospridium sp*.

L'étude statistique montre qu'il y a une différence significative entre les deux méthodes $P<0,05$ et le test de Kappa = 0,677 montre une concordance moyenne entre les deux techniques, ce qui n'est pas en accord avec les travaux de Hassan et al qui rapportent que la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée peut diagnostiquer des oocystes de *Cryptospridium sp.*
plus que la technique ELISA.

D'autres études qui ont montré que la capacité d'ELISA à identifier *Cryptosporidiumsp.* est réduite dans les échantillons avec de bas nombres des oocystes par rapport laméthode histologique.

Weber et al, Arrowood et Sterling ont mentionné que la méthode histologique et de ZN a une spécificité moyenne. Il est probable que les faux-négatifs et les faux-positifs aient été présents, ce qui rejoint d'autres travaux qui ont trouvé. que la technique de coloration de Ziehl-Neelsen modifiée était moins spécifique et moins sensible dans la détection des oocytes de *Cryptosporidiumsp.*

Des défauts de sensibilité, par l'absence de coloration de certains oocystes, ont été également signalés en particulier avec la coloration de Ziehl- Neelsen, en outre, la sensibilité de la technique Elisa pourrait être en rapport avec l'aptitude de l'ELISA à détecter des fragments d'oocystes ce que ne permet pas la technique de coloration.

Dans une étude de comparaison entre les techniques de diagnostic de *Cryptospridium sp.* faite en Afrique du Sud par Omoruyi et al à savoir : la coloration de ZN, l'ELISA et la PCR, les résultats ont montré des pourcentages différents. Ces résultats coïncident avec les notre où la coloration de ZN a montré une efficacité moindre.

La sélection, cible les sujets morts depuis peu de temps. Les animaux morts depuis plus de 6 heures sont rejetés, en raison de l'autolyse cellulaire qui gêne la lecture.

L'observation au microscope optique, nous a permis de préciser les modifications provoquées par le développement parasitaire dans les tissus intestinaux, ce sont l'ilium et le jéjunum qui présentent les lésions les plus sévères, ce qui correspond aux lésions qu'on a trouvé et qui s'installe surtout à la portion terminale du jéjunum, ce qui est en accord avec les observations.

On note une atrophie des villosités qui sont abrasées et qui fusionnent plus ou moins entre elle, l'épithélium villositaire apparait fortement modifié, il passe d'un type prismatique haut à un type prismatique bas, voire cuboïde, ce qui témoigne du remplacement des entérocytes atteints par des jeunes entérocytes immatures, les microvillosités sont irrégulières, courtes et éparses sur beaucoup de cellules toutefois, celle qui sont adjacentes au parasites sont fréquemment allongées.

Une hyperplasie des cryptes ou glande de Liberkuhun est a associée à l'atrophie villositaires, une infiltration inflammatoire de la lamina propria .les populations cellulaires mobilisées sont constituées de monocytes et demacrophages, de lymphocytes et de granulocytes éosinophiles .en outre, certains macrophages affluent dans la lumière intestinales.

Au niveau du gros intestin, les cryptosporidies ne sont pas observées que ce soit sur l'épithélium de surface ou dans l'épithélium cryptique .ce qui concorde les travaux qui ont montré que, la muqueuse du gros intestin n'est pas sévèrement affectée.

Conclusion

Conclusion :

Le protozoaire est présent chez les caprins, avec une fréquence importante. La maladie s'exprime par une diarrhée non caractéristique. L'épidémiologie de la cryptosporidiose des caprins n'est pas encore élucidée vu le manque d'études chez cette espèce en Algérie.

Notre étude a permis de connaitre l'importance de Cryptosporisidiose à l'échèle cheptel chez Les caprins. Nous pouvons conclure à lumière de nos études bibliographiques que la Cryptosporidiose est donc une maladie aux répercussions importantes, elle est responsable de pertes économiques Importantes (mortalité élevé) car elle engendre des diarrhées, des retards de croissance voire des morts des jeunes ruminants même les adulte mâle ou femelle, mais il existe aussi une forme asymptomatique de portage (source de contamination).

De plus, la grande résistance des oocystes dans le milieu extérieur (sporulation in situ) et leur caractère auto-infectieux expose les animaux à un risque élevé de contamination et l'absence de traitement curatif efficace à 100% contre cette zoonose, même si des traitements à visée prophylactique opérants sont actuellement disponibles, rend difficile la lutte contre cette maladie. En conséquence ces animaux peuvent être un réservoir potentiel des infections humaines suite à une contamination de l'eau et du sol. De nombreux éléments restent encore à découvrir dans cette pathologie, chez les caprins particulièrement : les facteurs de risque, l'association avec d'autres entéropathogènes, et le statut de l'espèce zoonotique (C. *parvum*), d'origine caprine. Des études moléculaires pourraient être d'un grand utility.

RECOMMANDATIONS

Recommandations :

A l'issu de notre étude et suite aux résultats que nous avons obtenu, nous apportons les recommandations suivantes pour réduire le risque de la cryptosporidiose et les autres agents pathogènes pour améliorer le bien-être et la résistance des agneaux aux diarrhées néonatales:

- ✓ Désinfecter le cordon ombilical dès la naissance et faire attention à l'hygiène de la litière, en évitant les espaces trop confinés avec l'emploi d'asséchants
- ✓ Assurer que les agneaux reçoivent un colostrum de qualité et quantité suffisante après la naissance, l'apport colostrale doit être suivie d'une alimentation équilibrée de qualité.
- ✓ Les brebis gestantes doivent recevoir une bonne alimentation équilibrée, notamment en fin de gestation et pendent la période d'allaitement.
- ✓ Vacciner les brebis en période pré-agnelage, afin d'enrichir le colostrum en anticorps, et contre l'entérotoxémie aussi.
- ✓ L'ambiance générale d'élevage (température, humidité, aération, densité animale) doit être suffisante.
- ✓ Prêter attention à l'origine et à la qualité de l'eau d'abreuvement
- ✓ Eviter le mélange ou la proximité d'espèces de ruminants, les carnivores domestiques et les rongeurs.
- ✓ Rapprocher les laboratoires des zones de productions, notamment les laboratoires de biologie moléculaire afin de connaitre les espèces des agents pathogènes qui circulent dans les troupeaux ovins de différentes régions de l'Algérie.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

[1]. Anaïs Rieux. Cryptosporidiose chez les ruminants domestiques en France : épidémiologie moléculaire et potentiel zoonotique [En ligne]. Thèse Biotechnologies agroalimentaires, sciences de l'aliment. Poitiers : Université dePoitiers, 2013.

[2]. Appelbee A.J., Thompson R.C.A., Olsen M.E., (2005) :Giarda and Cryptosporidium in mammalianwildlife-currentstatus& future needs, trends in parasit, 21(8), 370-376.

[3].FayeR. (2004). Cryptosporidium : a water-borne zoonotic parasite. Veterinary parasitology, 126 ,37-56.

[4].Helmy YA, Krücken J, Nöckler K, von Samson-Himmelstjerna G, Zessin K-H. Molecular epidemiology of Cryptosporidium in livestock animals and humans in the Ismailia province of Egypt. Vet Parasitol. 2013;193(1-3):15-24.

[5].Nime FA, Burek JD, Page DL, Holscher MA, Yardley JH. Acute enterocolitis in a human being infected with the protozoan Cryptosporidium. Gastroenterology. 1976;70(4):592-8.

[6]. Ma P, Soave R. Three-step stool examination for cryptosporidiosis in 10 homosexual men with protracted watery diarrhea. J Infect Dis. 1983;147(5):824-8.

[7]. Mac Kenzie WR, Schell WL, Blair KA, Addiss DG, Peterson DE, Hoxie NJ, et al. Massive outbreak of waterborne Cryptosporidium infection in Milwaukee, Wisconsin: recurrence of illness and risk of secondary transmission. Clin Infect Dis. 1995;21(1):57-62.

[8]. Pozio E, Morales MAG. The impact of HIV-protease inhibitors on opportunistic parasites.TrendsParasitol. 2005;21(2):58-63.

[9]. Fayer, R. (2004). Cryptosporidium: a water-borne zoonotic parasite. Veterinary Parasitology, 126(1-2), 37-56.

[10]. Current, W.L., Garcia, L.S., 1991 a. Cryptosporidiosis. Clin. Lab. Med. 11, 873-897

[11].Fayer, R., Xiao, L., 2007. Cryptosporidium and cryptosporidiosis.second ed. CRC Press, Boca Raton.

[12].Tzipori S, Ward H. Cryptosporidiosis: biology,pathogenesis and disease. Microbes Infect 2002;4:1047-58

[13]. Abrahamsen, M.S., Templeton, T.J., Enomoto, S., Abrahante, J.E., Zhu, G., Lancto, C.A., Deng, M., Liu, C., Widmer, G., Tzipori, S., Buck, G.A., Xu, P., Bankier, A.T., Dear, V., 2004.

Complete genome sequence of apicomplexan, Cryptosporidium parvum. Science. 304, 441-445.

[14]. Xu, P., Widmer, G., Wang, Y., Ozaki, L.S., Alves, J.M., Serrano,M.G., Puiu, D., Manque, P., Akiyoshi, D., Mackey, A.J., Pearson, W.R., Dear, P.H., Bankier, A.T., Peterson, D.L., Abrahamsen, M.S., Kapur, V., Tzipori, S., Buck, G.A., 2004. The genome of Cryptosporidium hominis.Nature. 431, 1107-1112.

[15]. Templeton, T.J., Lancto, C.A., Vigdorovich,V., Liu, C., London, N.R., Hadsall, K.Z., Abrahamsen, M.S., 2004. The Cryptosporidium occyst wall protein is a member of a multigene family and has a homolog in Toxoplasma. Infect. Immun. 72, 980-987.

[16]. O'DONOGHUE, P.- Cryptosporidium and cryptosporidiosis in Man and Animals.- International Journal for Parasitology, 1995, 25, 2 , 139-95.

[17]. XIAO, L., MORGAN, U.M., FAYER, R., THOMPSON, R.C., LAL, A.A. .- Cryptosporidium systematics and implications for public health.- Parasitology Today, 2000, 16, 7, 287-92.

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

[19]. Fayer, R., etUngar, B. L. P. (1986). Cryptosporidium Spp. And Cryptosporidiosis. Microbiological Reviews, 50(4), 458-483.

[20]. Ripert, C., Guyot, K., 2003. Cryptosporidiose. In Epidemiologie des maladies parasitaires vol. 3, pp. 269-297. Editions médicalesinternationales

[21]. Hawkins, S.P., R.P. Thomas, R.P., Teasdale, C., 1987. Acute pancreatitis: a new finding in Cryptosporidium enteritis. Br. Med. J. 294, 483-484.

[22]. López-Vélez, R., Tarazona, R., Garcia Camacho, A., Gomez-Mampaso, E., Guerrero, A., Moreira, V., Villanueva, R., 1995. Intestinal and extraintestinal cryptosporidiosis in AIDS patients. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 14, 677-681.

[23]. Vakil, N.B., Schwartz, S.M., Buggy, B.P., Brummitt, C.F., Kherellah, M., Letzer, D.M., Gilson, I.H., Jones, P.G., 1996. Biliary cryptosporidiosis in HIV-infected people after the waterborne outbreak of cryptosporidiosis in Milwaukee.N. Engl. J. Med. 334, 19-23.

[24]. de SouzaLdo, R., Rodrigues, M.A., Morceli, J., Kemp, R., Mendes, R.P., 2004. Cryptosporidiosis of the biliary tract mimicking pancreatic cancer in an AIDS patient.Rev.Soc. Bras. Med. Trop. 37, 182-185.

[25] .Wyatt, C.R., Riggs, M.W., Fayer, R., 2010. Cryptosporidiosis in neonatal calves. Vet. Clin.North. Am. Food. Anim. Pract. 26, 89-103.

[26]. Noordeen, F., Rajapakse, R.P.V.J., Horadagoda, N.U., AbdoulCareem,Arulkanthan, A., M.F., 2012. Cryptosporidium, an important enteric pathogen in goats-A review.Small.Rumin. Res. 106, 77-82.

[27]. Smith, H.V., 1990. Environmental aspects of Cryptosporidium species: a review. Journal of the Royal Society of Medicine, 83 (10), 629–631.

[28]. Barwick, R.S., Mohammed, H.O., White, M.E., Bryant, R.B., 2003. Factors associated with the likelihood of Giardia spp. and Cryptosporidium spp. in soil from dairy farms. Journal of Dairy Science, 86, 784-791.

[29]. KING BJ, MONIS PT (2006). Critical processes affecting Cryptosporidium oocyst survival in the environment. Parasitology, 134, 309-323.

[30]. Harp, J.A., Fayer, R., Pesch, B.A., and Jackson, G.J., 1996. Effect of pasteurization on infectivity of Cryptosporidium parvumoocysts in water and milk.Applied and environmental microbiology, 62 (8), 2866–2868.

[31]. Roberts, C.W. and Alexander, J., 1992. Studies on a murine model of congenital toxoplasmosis: vertical disease transmission only occurs in BALB/c mice infected for the first time during pregnancy. Parasitology, 104 Pt 1, 19–23..

[32]. AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments) (2002). Rapport sur les « infections à protozoaires liées aux aliments et à l'eau » : « Évaluation scientifique des risques associés à Cryptosporidiumsp », -185p.

[33]. Liang, Z., Keeley, A., 2012. Comparison of propidiummonoazide-quantitative PCR and reverse transcription quantitative PCR for viability detection of fresh Cryptosporidium oocysts following disinfection and after long-term storage in water samples.Water Research,46, 5941–5953.

[34]. OMS, 2013. La charge mondiale de la toxoplasmose: une étude systématique. http://www.who.int/bulletin/volumes/91/7/12-111732-ab/fr/index.html, 91, 465–544.

[35]. Chartier, C., 2001 a, Epidemiologie de la cryptosporidiose. Le Point Vétérinaire, n°212, 2-6.

[36]. Chartier, C., 2001b. Contrôle de la cryptosporidiose des ruminants. Le Point Vétérinaire, n° 213, 32-35.

[37]. Trotz-Williams, L.A., Wayne Martin, S., Leslie, K.E., Duffield, T., Nydam, D.V., Peregrine, A.S., 2007. Calflevel risk factors for neonatal diarrhea and shedding of Cryptosporidium parvum in Ontario dairy calves. Prev. Vet. Med. 82, 12-28.

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

[39]. Andro-786.pdf.

[40]. Simone M. et WIDMER, Giovanni (ed.) CACCIÒ, "Cryptosporidium: parasite and disease. Springer Science & Business Media," 2013.

[41]. Kakarsulemankhel JK Kakar MN, "Prevalence of endo (trematodes) and ectoparasites in cows and buffaloes of Quetta, Pakistan," Pak Vet J, vol. 28, pp. 34-6, 2008.

[42]. L Robertson, "Giardia and Cryptosporidium infections in sheep and goats: a review of the potential for transmission to humans via environmental contamination," Epidemiology & Infection, vol. 137, pp. 913-921, 2009.

[43]. F., Rajapakse, R.P., Faizal, A.C., Horadagoda, N.U., Arulkanthan,ANoordeen, "Prevalence of Cryptosporidium infection in goats in selected locations in three agroclimatic zones of Sri Lanka," Vet. Parasitol, vol. 93, pp. 95-101, 2000.

[44]. T., Varga, I., Bekesi, L Sreter, "Age-dependent resistance to Cryptosporidium m baileyi infection in chickens," J. Parasitol, vol. 81, pp. 827–829, 1995.

[45]. S.X., Fang, G.D., Fayer,R., Guerrant,R.LZu, "Cryptosporidiosis:pathogenesis s and immunology ," Parasitol. Today, vol. 8, pp. 24–27, 1992.

[46]. Paraud C, Pors I, Chartier C Rieux A, "Molecular characterization of Cryptosporidium spp.in pre-weaned kids in a dairy goat farm in western France," Vet Parasitol, vol. 192, pp. 268–272, 2013.

[47]. Charmette et Boufassa, (1988):-Cryptosporidiose : une maladie animale et humaine cosmopolite. Deuxiémeedition. Pages127.

[48]. 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. 189 (2): 192-193.

[49]. Salvin,D., (1955).cryptosporidium meleagridis (sp.nov.). J Comp Pathol65, 262-266.

[50]. Ortega.Mora LM, Troncoso JM, Rojo. Vazquez FA, Gomez. Bautista M., (1993), <<serum antibody reponse in lambs naturally and experimenrally infected with Cryptosporidium>>. Vet Parasitol, 50: 45-54.

[51].Blewett DA, Wright SE, Casemore DP, Booth NZ, Jones CE. (1993), <<Infective dose size studies on Cryptosporidium parvum using gnotobiotic lambs>>.WatSci Tech, 27:61.4.

[52].NaciriM; LZd y M.P Mancassola R., Poirier P., Chermette R (1999):<<role of

cryptosporidiumparvuminneonatale diarrhea complex in suckling and dairy calves in France>>. Veterinary Parasitolgy, 85. P. 245-247.

[53]. ANDERSON, B.C. .- Cryptosporidiosis in bovine and human health.- Journal of Dairy Science, 1998, 81, 3036-41.

[54]. Ortega –Mora L.m., Requejo-Fernandez J.A., Pilar-Izaquierdo M., Pereira-Bueno J, (1971), <<Role of adult sheep in transmission of infection by cryptosporidium parvum to lambs: conformation of peripartupient rise>>. International journal for parasitologie, 8.479484.

[55]. Chambon F., <<La cryptosporidiose du cheveauenquete et essai thérapeutique >>, Thés. Méd. Vét.,

[56]. (CHAMBON 1990, CASEMORE 1991, CHARTIER et al. 2002)

[57]. (DELAFOSSE et al. 2003)

[58]. Eddaikra .N Bensseddik .N.Bouiba .N. Belmadani.S, Harrat .Z ;Bachir.F. Belkaid.M. <<Epidemiologie des parasitose intestinales chez l'enfant dans l'Algérie place de la cryptosporidiose>>. VII émie journée nationale de parasitologie, Alger le (21 mai 2003).

[59]. Naciri M. (1994). <<Cryptosporidiose des ruminants et santé publique.- Le point Vétérinaire, numéro spécil<<Ruminants et santé publique >>. 26, 49-55.

[60]. CHARTIER C., (2002a), La cryptosporidiose des petits ruminants, Le point vétérinaire Pathologie ovine et caprine, 118-122.

[61]. Principales maladies néonatales des agneaux ; Filière Ovine et Caprines n° 19, (janvier 2007).

[62]. BonninA., Dalle F., Valot S., Dautin G., Di Palma M. Infections à cryptosporidies et à cyclospora EMC, maladies infectieuses, 8-501-A-10,2006

[63]. XIAO L., MORGAN U., LIMOR J., ESCALANTE A., ARROWOOD M., SHULAW W., THOMPSON R.C.A., FAYER R. & LAL A.A. Genetic diversity within Cryptosporidium parvum and related Cryptosporidium species. Appl.Environ. Microbiol, 65, 3386–3391. (1999).

[64]. SMITH H.V., CAMPBELL B.M., PATON C.A. & NICHOLS R.A.B. Significance of enhanced morphological detection of Cryptosporidium sp. oocysts in water concentrates using DAPI and immunofluorescence microscopy. Appl. Environ. Microbiol., 68, 5198–5201. (2002).

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

[66]. Hoar, B.R., Atwill, E.R., Elmi, C., Farver, T.B., 2001. An examination of risk factors associated with beef cattle shedding pathogens of potential zoonotic concern. Epidemiol. Infect. 127, 147-155.

[67] Xian-Ming, KEITHLY, Janet S., PAYA, Carlos V., et al CHEN, "Cryptosporidiosis," New England Journal of Medicine, vol. 346, no. 22, pp. 1723-1731, 2002.

[68] Fabrice, MCCOLE, Declan, ECKMANN, Lars, et al LAURENT, "Pathogenesis of Cryptosporidium parvum infection," Microbes and Infection, vol. 1, no. 2, pp. 141-148, 1999.

[69] Pablo C. et CHAPPELL, Cynthia L OKHUYSEN, "Cryptosporidium virulence determinants–are we there yet?," International journal for parasitology, vol. 32, no. 5, pp. 517-525, 2002.

[70] Bani, MAGNUSSON, Maria K., et ÖHMAN, Lena AHLUWALIA, "Mucosal immune system of the gastrointestinal tract: maintaining balance between the good and the bad," Scandinavian journal of gastroenterology, vol. 52, no. 11, pp. 1185-1193, 2017.

[71] Allan McI MOWAT, "Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens.," Nature Reviews Immunology, vol. 3, no. 4, pp. 331-341, 2003.

[72] Andrew P., GUILLOU, Pierre J., BLAND, Kirby I., et al.(ed.) ZBAR, "Commentary on chapiter 19 in : Immunology for surgeons," Springer, 2002.

[73] Myoung Ho, KWEON, Mi-Na, IWATANI, Koichi, et al JANG, "Intestinal villous M cells: an antigen entry site in the mucosal epithelium," Proceedings of the National Academy of Sciences, vol. 101, no. 16, pp. 6110-6115, 2004.

[74] Daria L., DENTON, Stephen L., FETTEL, Kevin D., et al IVANOVA, "Innate lymphoid cells in protection, pathology, and adaptive immunity during apicomplexan infection," Frontiers in immunology, p. 196, 2019.

[75] McDonald V Barakat FM, Barakat_F_MD(Res)_final.

[76] Charles K. et KOL, Amir CRAWFORD, "The mucosal innate immune response to Cryptosporidium parvum, a global one health issue," Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, vol. 11, p. 451, 2021.

[77] V., KORBEL, D. S., BARAKAT, F. M., et al MCDONALD, "Innate immune responses against Cryptosporidium parvum infection," Parasite immunology, vol. 35, no. 2, pp. 55-64, 2013.

[78] Fabrice et LACROIX-LAMANDÉ, Sonia LAURENT, "Innate immune responses play a key role in controlling infection of the intestinal epithelium by Cryptosporidium," International Journal for Parasitology, vol. 47, no. 12, pp. 711-721, 2017.

[79] Jacob G. et WARD, Honorine D LUDINGTON, "Systemic and mucosal immune responses to cryptosporidium—vaccine development," Current tropical medicine reports, vol. 2, no. 3, pp. 171-180, 2015.

[80] Franz, JAKOBI, Vera, et TESSEMA, Tesfaye S PETRY, "Host immune response to Cryptosporidium parvum infection," Experimental parasitology, vol. 126, no. 3, pp. 304-309, 2010.

[81] Vincent, SMITH, Rosemary, ROBINSON, Heidi, et al MCDONALD, "Host immune responses against Cryptosporidium," Contributions to Microbiology, vol. 6, pp. 75-91, 2000.

[82] M. S ABRAHAMSEN, "Bovine T cell responses to Cryptosporidium parvum infection," International journal for parasitology, vol. 28, no. 7, pp. 1083-1088, 1998.

[83] Jody L., NORDONE, Shila K., et ARGENZIO, Robert A GOOKIN, "Host responses to Cryptosporidium infection," Journal of veterinary internal medicine, vol. 16, no. 1, pp. 12-21, 2002.

[84] V MCDONALD, "Host cell-mediated responses to infection with Cryptosporidium," Parasite immunology, vol. 22, no. 12, pp. 597-604, 2000.

[85] M., MORALES, G., et POZIO, E ANGELES, "Humoral and cellular immunity against Cryptosporidium infection," Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders, vol. 2, no. 3, pp. 291-301, 2002.

[86] Anoliet WARD, Honorine BORAD, "Human immune responses in cryptosporidiosis," Future Microbiology, vol. 5, no. 3, pp. 507-519, 2010.

[87] K. W ANGUS, "Cryptosporidiosis and AIDS," Baillière's Clinical Gastroenterology, vol. 4, no. 2, pp. 425-441, 1990.

[88] **Anonyme : (UMVF**):université médicale virtuelle francophone. International journal. –451