

لجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
قائمة 1945 ماي 8 جامعة  
Université 8 Mai 1945 Guelma  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers



**Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master**

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Filière : Sciences Biologiques**  
**Département : Biologie**  
**Spécialité/Option : Parasitologie**

**Thème:**

Dépistage du *Cryptospridium parvum* dans les eaux de la région  
de Guelma

**Preparer par:**

- Attallah Mayssa
- Bouchbout Wissam
- Ghadab Aicha Boutheyra

**Devant le jury composé de :**

- Président : Dr. Bouchelaghem A.H (M.C.B)
- Examineur : Dr.Hamdiken (M.C.B)
- Encadreur : Dr.Aissaoui.R (M.C.B)

**Septembre 2020**

## *Remerciement*

*Nous tenons à remercier Dieu de nous avoir donné la force et la bonne santé, la patience et le courage de mener à bon terme Ce modeste travail.*

*Nous tenons également à exprimer nos sincères remerciements à notre promoteur*

**Dr Aissaoui Ryadh** *Pour son encadrement et ses orientations judicieuses et l'ensemble des moyens mis à notre disposition qui nous ont été infiniment utiles.*

**Dr Bouchelaghem** *nous fais un grand honneur en acceptant de présider Ce jury . Veuillez accepter l'expression de notre sincère reconnaissance.*

**Dr Hamdiken** *nous avoir fait l'honneur d'être examinatrice et de participer au jury de ce mémoire.*

*Enfin, nos remerciements vont également à l'ensemble du personnel technique des laboratoires.*

## *Dédicace*

*Je dédie ce mémoire*

*A mes chers parents ma mère : Djamila et mon père : Abd el  
Malek que*

*J'aime le plus au monde*

*Pour leur patiences, amour, sacrifices, soutien et leur  
encouragements*

*Que Dieu les gardes et les protèges, en leur souhaitant une  
longue vie*

*Pleines de santé et de bonheurs*

*A mon frère : Abd El Rezek*

*A ma belle-sœur : Nour*

*A mon fiancé : Mohammed et à ma belle famille*

*A mon chère amie : Nesrine*

*« Pour ses soutiens moraux et leurs conseils précieux tout au  
long de mes études »*

*A toutes les familles Attallah et Bouatia petits et grand et  
à toutes les Personnes qui j'aime.*

**Attallah Mayssa.**

## Dédicace

*Avant tout, je remercie DIEU le tout puissant avoir donné le courage, la volonté, et la force pour l'élaboration de ce travail.*

*Je dédie ce modeste travail*

*A ceux qui m'ont donné la vie, la lumière de mes yeux mes très chers parents, mon père Rachid et ma mère Samia, qui ont consacré leur noble existence à bâtir la mienne. De ma vie je ne saurai assez leur exprimer mon affection, ma reconnaissance et mon amour.*

*A mes frères Oussama et Haythem et à ma sœur Hidaya qui font une partie de mon bonheur.*

*A tous mes familles Bouchbout, oncles et tantes, cousins et cousines, petit et grand, sans exception.*

*A tous mes amis, et à toute personne qui j'aime et qui m'aime.*

**Bouchbout Wissam**

## Dédicace

*Un des plus grands plaisirs certes, mais pas toujours une  
partie de plaisir.*

*Heureusement qu'il y a ces autres fous atteints du même mal  
qui sont toujours là pour vous relever quand ça va mal!*

*J'aimerais dédier ce mémoire...*

*A, mon précieux offre du dieu mon cher père qui m'a donné  
la main quand la pente était trop abrupte. Merci d'avoir su  
m'aider en me guidant vers les ressources que j'oubliais  
parfois (souvent !) avoir déjà en moi. Merci pour ton temps,  
merci pour ta sagesse, merci d'avoir été là et d'être encore  
là.*

*À ma mère, qui m'a écoutée durant d'interminables heures  
et qui n'a jamais cessé de croire qu'on finirait bien un jour  
par trinquer au succès de cette aventure. Merci maman  
d'être cette force de la nature*

*A mes chères sœurs et mon mari.*

*A tous les amis que j'ai connus jusqu' à maintenant et ma  
famille merci pour leurs amours et leurs encouragements.*

**Ghedab Aicha Boutheyna**

## Sommaire

Remerciement	
Dédicace	
Liste des tableaux	
Listes des figures	
Liste des abréviations	
Introduction.....	1
<b>Partie bibliographique</b>	
I. Historique: .....	3
II. La Taxonomie .....	3
III. Biologie.....	5
III.1. Habitat .....	5
III.2. Cycle.....	5
III.2.1. Caractéristiques .....	5
III.2.2. Déroulement du cycle .....	6
III.2.3. Particularités du Cycles: .....	8
III.3. La morphologie.....	9
III.3.1. Les autres différents stades de <i>Cryptosporidium parvum</i> .....	10
IV. Facteurs physiques qui réduisent la viabilité des oocystes .....	12
IV.1. Température .....	12
IV.1.1. Basses températures .....	12
IV.1.2. Hautes températures .....	13
IV.2. Dessiccation .....	14
V. Les produits chimiques qui réduisent la viabilité des oocystes .....	14
V.1. Effet des désinfectants.....	14
V.2. Effet d'autres désinfectants gazeux .....	15
VI. Facteurs environnementaux susceptibles de réduire le nombre d'oocystes .....	16
VII. La cryptosporidiose .....	16
VII.1. Définition.....	16
VII.2. Epidémiologie.....	17
VII.2.1. Répartition géographique .....	17
VII.2.2. Epidémiologie .....	17
VII.2.3. Facteurs favorisant de la contamination .....	17

VII.2.4. Mode de contamination.....	18
VII.2.5. Doses infectantes chez l'homme.....	18
<b>VII.3. Tableau clinique: .....</b>	<b>19</b>
VII.3.1. Chez l'humain .....	19
VII.3.2. Chez les animaux.....	19
VII.4. Diagnostic de la cryptosporidiose.....	20
VII.5. Traitement.....	24
VII.6. Prévention .....	24
<b>Partie Pratique</b>	
<b>I. Matériel et méthodes .....</b>	<b>26</b>
I.1. Présentation de la région d'études .....	26
I.2. Présentation de la démarche scientifique.....	26
I.3. Matériel.....	27
I.3.1. Matériel biologique .....	27
I.3.2. Appareillage .....	27
I.3.3. Matériel de prélèvements .....	27
I.3.4. Matériel utilisée.....	27
I.3.5. Matériel chimique .....	28
<b>I.4. Méthode.....</b>	<b>28</b>
I.4.1. Technique de filtration de l'eau (Ouchene, 2008).....	28
I.4.2. Technique de coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz (Guillaume, 2007).....	29
<b>II. Résultats et interprétations .....</b>	<b>30</b>
II.1. Résultats des stations de prélèvements.....	30
II.2. Interprétation .....	31
<b>Conclusion .....</b>	<b>34</b>
<b>Références Bibliographiques .....</b>	<b>35</b>
Liste des annexes	
Résumé	
Abstract	
تلخيص	

## Liste des tableaux

<b>Table 1</b> : Les espèces de <i>Cryptosporidium</i> reconnues, leurs spécificités d'hôtes prédominantes et les sites primaires d'infection. (Carey, 2004).....	4
<b>Table 2</b> : Les différents stades évolutifs de <i>Cryptosporidium sp</i> (Certad, 2008) (Valigurová, 2008).....	10
<b>Table 3</b> Influence des basses températures sur la viabilité de <i>Cryptosporidium parvum</i> . (Xiao, 1997).....	13
<b>Table 4</b> Concentration et temps d'exposition pour 90% d'inactivation de <i>Cryptosporidium parvum</i> par différents agents désinfectants. (Korich, 1996).....	14
<b>Table 5</b> Influence de certains gaz désinfectants sur la viabilité de <i>Cryptosporidium parvum</i> (Fayer., 1996).....	15
<b>Table 6</b> : Méthodes de détection de <i>Cryptosporidium</i> (Benamrouz., 2014) .....	21
<b>Table 7</b> : Distribution des sources du prélèvement et leurs résultats .....	30
<b>Table 8</b> : Distribution des prélèvements analysés. ....	31

## Listes des figures

<b>Figure 1</b> : Représentation schématique du cycle évolutif (Appelbee, 2005) .....	6
<b>Figure 2</b> : Cycle biologique de <i>Cryptosporidium sp</i> d'après Ward et Cevallos (Ward, 1998) .....	8
<b>Figure 3</b> : morphologie de l'oocyste (Valigurová, 2008).....	9
<b>Figure 4</b> : Localisation de la wilaya de Guelma (Google maps 2020).....	26
<b>Figure 5</b> : Observation microscopique d'oocyste (grossissement ×100) .....	31

## Liste des abréviations

**C** Cryptosporidium

**sp** espèce

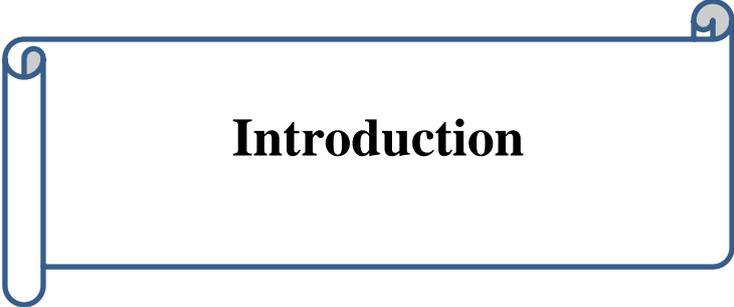
**DMI** dose minimale infectante

**SIDA** Syndrome d'immunodéficit acquis

**PCR** Ploymerase chain reaction

**RFLP** Restriction Fragment Length Polymorphism

**ELISA** Enzyme Linked Immuno-sorbent Assay



**Introduction**

# Introduction

---

## Introduction

Le *cryptosporidium parvum* est un parasite protozoaire, a été décrit pour la première fois il y a plus de 90 ans. Cependant, bien que très souvent rencontré lors d'épidémies bovines ou ovines, sa pathogénicité chez l'homme a été prouvée il y a 25 ans. (Arly, 2001)

Le *Cryptosporidium* est à l'origine d'importantes épidémies et diarrhées. Ces dernières durent généralement moins de deux semaines chez les personnes immunocompétentes alors qu'elles peuvent être abondantes et entraîner une morbidité et une mortalité significative chez les personnes immunodéprimées, en particulier chez les patients sidéens. C'est en 1971 que fut rapporté pour la première fois un cas de cryptosporidiose chez les bovins; depuis l'infection par *C.parvum* s'est avérée être une cause importante de diarrhée néonatale chez la plupart des animaux domestiques. (Kim, 2006). Les oocystes contenant les sporozoïtes infectants sont éliminés avec les selles des hôtes infectés. Ils contaminent ainsi l'environnement où ils gardent leur pouvoir infectieux pendant une longue durée puisqu'ils sont très résistants aux traitements usuels de désinfection de l'environnement. (Benamrouz, 2012)

Le *Cryptosporidium* est transmis quand les personnes ou animaux ingèrent la nourriture ou l'eau contaminé avec ses oocystes (les particules infectieuses de la parasite). (Mackenzie, 1994)

Le *Cryptosporidium* peut être plus prévalent dans l'eau de la surface que dans l'eau souterraine puisque l'eau de surface peut être facilement contaminée par les effluents déchargés par usines de traitement d'eaux usées, ou par ruissellement de certaines opérations agricoles et régions urbaines. Les processus de désinfection et de filtration utilisés dans les usines de traitement d'eau de la surface peuvent enlever le *Cryptosporidium* la plupart du temps, mais les usines de traitement d'eau de surface qui ne disposent pas de moyens efficaces contre ce parasite. La plupart d'épidémies sont causées par des pannes d'usine de traitement ou de changements rapides dans la qualité d'eau non traitée.

## Introduction

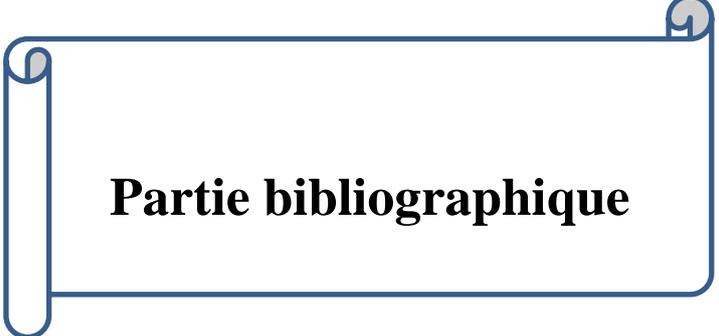
---

L'objectif de notre travail est d'étudier la présence d'un micro-organisme pathogène. Le *Cryptosporidium parvum* dans des points d'eaux dans wilaya de Guelma utilisés comme abreuvoirs du cheptel bovin et ovin de la région.

La présente étude est subdivisée en deux parties :

- Une partie bibliographique dans laquelle nous présentons le parasite, sa taxonomie, la morphologie de l'oocyste et la maladie avec son aspect clinique et son diagnostic, les traitements disponibles.

- La deuxième partie est consacrée à la présentation de la région d'étude et les méthodes et les techniques utilisées lors de l'élaboration de la partie pratique de notre mémoire ainsi que les résultats préliminaires obtenus.



**Partie bibliographique**

## Partie bibliographique

---

### I. Historique:

Clarke, en 1894 été le premier à observer le *Cryptosporidium* qu'il décrivait à l'époque comme une nuée de spores dans épithélium gastrique chez des souris. (Currentt, 2015)

En 1907, Tyzzer a identifié ce protozoaire qu'il observait fréquemment à l'intérieur des glandes gastriques des souris de laboratoire (*Mus musculus*) Il a nommé ce nouveau genre taxonomique *Cryptosporidium*, signifiant **spores cachées** à cause de l'hôte chez lequel il a été découvert, en l'occurrence la souris, Tyzzer a nommé la première espèce du parasite «muris». (Baillargeon, 2004).

Plus tard, Tyzzer(1912) a identifié une espèce isolée à partir du petit intestin d'une souris : *Cryptosporidium parvum*. Par la suite *C. meleagridis* provenant de dinde a été décrit en 1955. (Arly, 2001)

La première infection causé par la cryptosporidiose chez les agneaux diarrhéique âgés d'une à trois semaines a été découverte en 1974 en l'Australie. (Angus, 1983)

En 1975, le genre *Cryptosporidium* a été découvert dans l'intestin de veaux diarrhéiques ce qui confirme le rôle pathogène potentiel du parasite. L'espèce en cause c'était *Cryptosporidium parvum*.

Chez l'Homme, son dépistage est d'acquisition récente puisque le premier cas n'a été diagnostiqué que par biopsie intestinale. (Nime, 1976)

En 1976, le *Cryptosporidium sp* est mis en évidence chez deux patients humains présentant une diarrhée sévère l'un immunocompétent et l'autre immunodéprimé. (Nime, 1976)

En Algérie, les premiers travaux sur la Cryptosporidiose ont été réalisés par Akam et al (2007) et Khalef et al (2007) (Khelef., 2007)

### II. La Taxonomie

Le *Cryptosporidium* est un protozoaire parasite apicomplexe. Toutes les espèces sont classées taxonomiquement dans la famille **des Cryptosporidiidae**, le

## Partie bibliographique

sous-ordre **Eimeriorina**, l'ordre **Eucoccidiorida**, la sous-classe **Coccidiasina** et la classe **Coccidia**. Onze espèces sont actuellement reconnues au sein du genre *Cryptosporidium* (tableau 1). La taille microscopique, l'obscurité des structures internes et la forme sphérique des oocystes fournissent peu de caractéristiques morphologiques distinctives. Il a été constaté que l'analyse morphométrique (rapport entre la taille, la longueur et la forme) ne permettait pas de différencier les oocystes de *C. canis* et de divers génotypes de *C. parvum*. (Carey, 2004)

**Table 1** : Les espèces de *Cryptosporidium* reconnues, leurs spécificités d'hôtes prédominantes et les sites primaires d'infection. (Carey, 2004)

<b>Espèce <i>Cryptosporidium</i></b>	<b>Spécificité de l'hôte prédominant</b>	<b>Longueur de l'oocyste(mm)</b>	<b>Largeur de l'oocyste(m m)</b>	<b>Lieu principal de l'infection</b>
<b><i>C.canis</i></b>	Chiens	4,7-5,0	4,8-5,2	Intestin grêle
<b><i>C. andersoni</i></b>	Bovins domestique	6.6-8.1	5.0-6.5	Estomac
<b><i>C. baileyi</i></b>	Oiseaux	6,0-7,5	4,8-5,7	Trachée, bourse de Fabricius, cloaque
<b><i>C. felis</i></b>	Chats	3,2-5,1	3,0-4,0	Intestin grêle
<b><i>C. hominis</i></b>	Humains	4.4-5.4	4.4-5.9	Intestin grêle
<b><i>C. meleagridis</i></b>	Oiseaux	4,5-6,9	4,2-5,3	Intestin grêle

## Partie bibliographique

<i>C. muris</i>	Principalement chez la souris	6,5-8,7	4,6-6,3	Estomac
<i>C. parvum</i>	152 espèces de mammifères	4.5-5.4	4.2-5.2	Intestin grêle
<i>C. serpentis</i>	Nombreuses espèces de reptiles	5,6-6,6	4,8-5,6	Estomac
<i>C. wrairi</i>	Cobayes	4,8-5,6	4,0-5,0	Intestin grêle
<i>C. nasorum</i>	Poisson	3,5-4,7	4,2-5,0	Estomac, intestin grêle

### III. Biologie

#### III.1. Habitat

Le *Cryptosporidium* peut être rencontré dans le sol, dans la nourriture, dans l'eau ou sur des surfaces qui ont été souillées avec des résidus infectés d'humains ou d'animaux. Des récoltes peuvent être complètement souillées par l'application directe d'engrais infectés dans les champs. Il ne peut pas être transmis par le sang, mais il peut l'être en ingérant de la nourriture ou de l'eau qui était en contact avec des résidus souillés. (Toudert, 2015)

#### III.2. Cycle

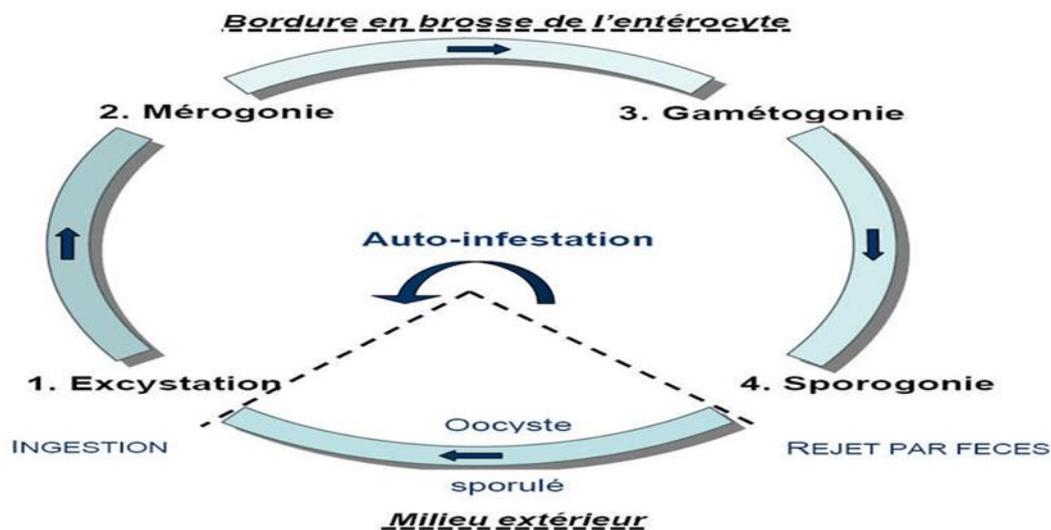
##### III.2.1. Caractéristiques

L'ensemble des espèces du genre *Cryptosporidium* sont des **parasites obligatoires**. (Fayer, 2004)

## Partie bibliographique

Le cycle du parasite est **un cycle monoxène** où tous les stades de développement se déroulent chez un même hôte.

- **Lieu:** épithélium de l'intestin grêle, gastro-intestinal en général mais d'autres localisations sont possibles.
- **Période pré patente :** (durée du cycle parasitaire chez l'hôte soit la durée qui s'écoule entre l'ingestion et l'excrétion des premiers oocystes) : 2 à 14 jours chez la plupart des espèces domestiques avec une moyenne de 3 à 6 jours.
- **Période patente:** (durée totale d'excrétion): variation inter et intra espèces de quelques jours à quelques mois en fonction de l'immunocompétence de l'hôte, de l'espèce de *Cryptosporidium* en cause... Expérimentalement, lorsqu'on infecte des veaux nouveau-nés avec la *Cryptosporidium parvum*, la durée d'excrétion s'étend de 4 à 13 jours.
- **Espèces hôtes:** un très grand nombre d'espèces de mammifères dont l'homme peuvent être infectées par *Cryptosporidium parvum*. Ce manque de spécificité d'hôte permet au parasite de se reproduire aisément et d'avoir une large gamme d'hôtes excréteurs potentiels à disposition. (Appelbee, 2005)



**Figure 1 :** Représentation schématique du cycle évolutif (Appelbee, 2005)

### III.2.2. Déroulement du cycle

La figure 1 résumé les différentes étapes du cycle du *cryptosporidium*.

## Partie bibliographique

---

### a) Excystation

Après l'ingestion, les oocystes libèrent dans le tractus digestif les sporozoïtes ; les conditions du milieu intestinal (température, enzymes, sels biliaires, milieu réducteur...) altèrent la paroi de l'oocyste qui se fend. Chaque oocyste libère quatre sporozoïtes nus. Cette excystation se fait très facilement permettant au parasite d'envahir rapidement le tractus intestinal. (Xiao, 1997)

### b) Mérogonie

La première génération de la reproduction asexuée ou mérogonie donne des mérontes de type I qui contiennent huit mérozoïtes. Ces mérozoïtes sont libérés de la vacuole parasitophore et envahissent les cellules épithéliales voisines. Ils y évoluent alors en mérontes de type II qui contiennent quatre mérozoïtes (deuxième génération de la reproduction asexuée) pouvant également reformer des mérontes de type I (recyclage des mérontes de type I). Ce recyclage permet d'allonger la période d'excrétion. Ce sont les mérozoïtes de deuxième génération qui vont produire les gamontes. (Xiao, 1997)

### c) Gamétogonie:

Les mérozoïtes de deuxième génération produisent des micro-gamontes mâles et des macro-gamontes femelles qui évolueront en micro gamètes et macro gamètes.

Un micro-gamonte produit jusqu'à 16 microgamètes qui, une fois matures, féconderont la macro gamète pour donner un zygote (**Fécondation**). (Xiao, 1997)

### d) Sporogonie ou sporulation:

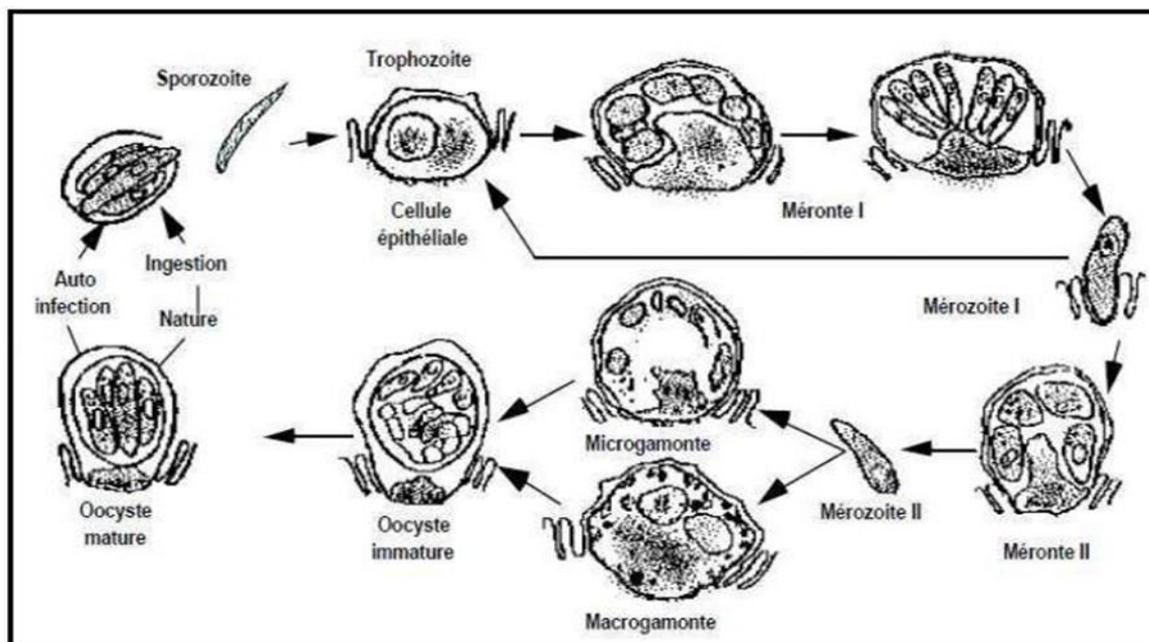
La sporogonie se fait chez l'hôte : le zygote évolue à en oocyste sporulé directement dans le tractus intestinal. Il existe deux sortes d'oocystes en fonction de l'épaisseur de leur paroi. Les oocystes à paroi épaisse sont directement éliminés avec les fèces et ceux à paroi plus fine (environ 20 %) libèrent leurs sporozoïtes directement dans le tractus digestif et donnent lieu à une auto-infestation et à un nouveau cycle de développement chez le même hôte. (Baillargeon, 2004)

## Partie bibliographique

### e) Survie dans le milieu extérieur :

Dans le milieu extérieur les oocystes excrétés déjà sporulés sont directement infectants. Ils bénéficient d'une grande résistance et survivent facilement sur de nombreux supports pendant plusieurs mois.

Ils sont capable d'infester un grand nombre d'espèces différentes et de se reproduire rapidement, le *Cryptosporidium* possède une forte aptitude à se disséminer.



*Figure 2 : Cycle biologique de Cryptosporidium sp d'après Ward et Cevallos (Ward, 1998)*

### III.2.3. Particularités du Cycles:

Par sa ressemblance en quelques points aux autres Entérococcidies des mammifères, le *Cryptosporidium* possède des particularités qui font de lui un genre unique.

La présence d'**auto-infestation** à partir du recyclage des mérontes de type I et des oocystes à paroi fine peut conduire à des maladies chroniques avec ré infestation continue en dehors de tout contact avec des oocystes exogènes. Cette particularité a des conséquences graves car elle allonge considérablement la période d'excrétion et l'intensité des symptômes qui peuvent durer plusieurs mois et conduire à la mort. (Kihal., 2015)

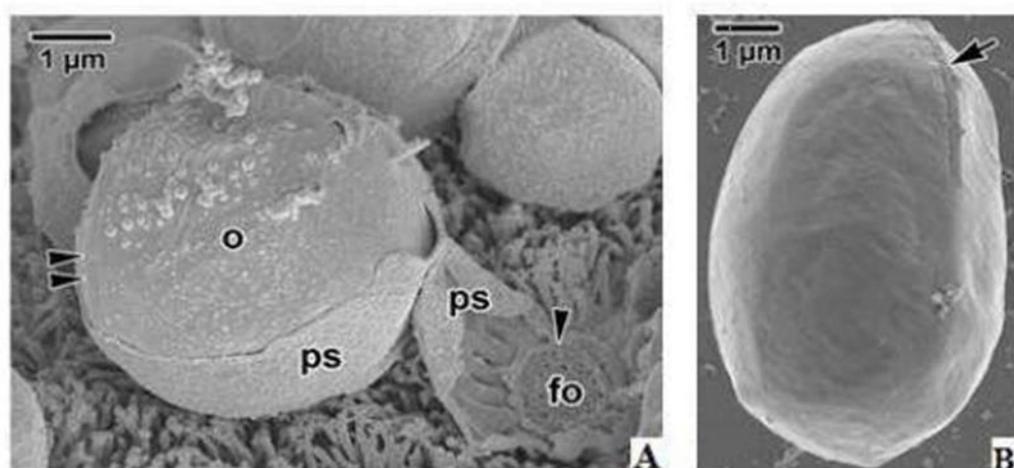
## Partie bibliographique

La faible période pré patente et les modalités d'auto-infestation permettent une colonisation très rapide de tout le tractus digestif. L'infestation s'étend ainsi très souvent depuis l'iléon au duodénum et au gros intestin. Chez les individus immunodéprimés, l'estomac, les canaux biliaires et pancréatiques et le tractus respiratoire peuvent également être infestés. (Kihal., 2015)

### II.3. La morphologie

Parmi les coccidies, les oocystes de *Cryptosporidium sp* sont les plus petits. Leur diamètre varie entre 4 et 8  $\mu\text{m}$  selon les espèces. Ils ont une forme sphérique à ovoïde et contiennent chacun quatre sporozoïtes nus (sans sporocyste), libres agencés autour d'un corps résiduel granuleux très réfringent mesurant un micron de diamètre. Leur paroi très résistante, leur permet une grande survie dans le milieu extérieur. Elle est composée de deux couches : la couche externe composée (figure 3) d'une matrice polysaccharidique et la couche interne, composée de glycoprotéines filamenteuses. La couche externe est immunogène et très résistante aux protéases alors que la couche interne de par sa composition confère une certaine élasticité à la paroi. (Xiao, 1997)

A l'un des pôles, une suture est visible sur la paroi (figure 3), cette suture permet aux sporozoïtes de sortir de l'oocyste au moment de l'excystation. (Xiao, 1997).



**Figure 3:** morphologie de l'oocyste (Valigurová, 2008)

## Partie bibliographique

**A** : Oocyste mature (o) partiellement enveloppé par une partie de la vacuole parasitophore (ps). Observation de l'organelle nourricière (fo). Les flèches à gauche indiquent la suture longitudinale.

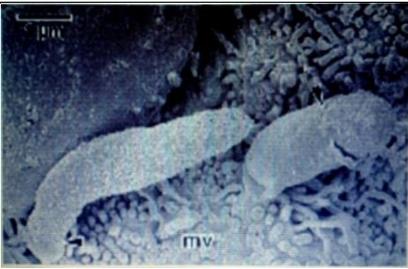
**B** : Oocyte mature récolté dans les fèces. La flèche présente la suture longitudinale.

### II.3.1. Les autres différents stades de *Cryptosporidium parvum*

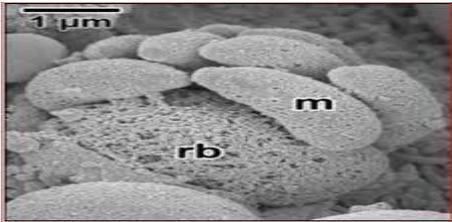
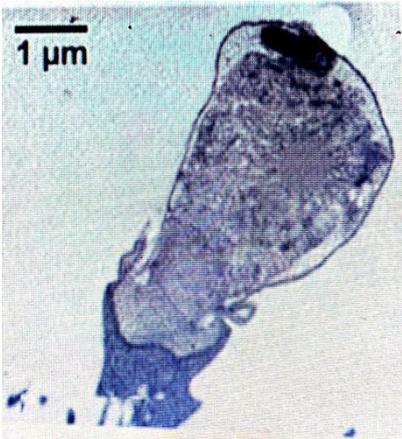
Dans les années 1980, la microscopie électronique a fait son apparition et a permis la différenciation des différents stades parasites et de préciser les caractères morphologiques de *Cryptosporidium sp.*

La morphologie des différents stades du cycle de vie de *Cryptosporidium* est décrite dans le tableau ci-dessus.

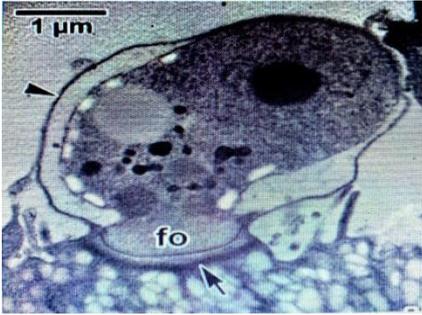
**Table 2** : Les différents stades évolutifs de *Cryptosporidium sp* (Certad, 2008) (Valigurová, 2008)

Forme évolutive	Morphologie	Description
<b>Sporozoïtes</b>	 <p>-mv : microvillosités</p> <p>-Les flèches indiquent le recouvrement des parasites par la membrane de la cellule hôte aboutissant à la formation de la vacuole parasitophore.</p>	Les sporozoïtes sont les formes parasites invasives, libres et mobiles. Ils ont une forme de croissant, avec une partie postérieure arrondie, et renferment un noyau proéminent.

## Partie bibliographique

<p><b>Trophozoïtes :</b></p>	 <p>Les flèches désignent la vacuole parasitophore et la présence d'un organelle nourricier (en bas à gauche)</p>	<p>Les trophozoïtes contiennent un nucléole proéminent dans un seul noyau entouré de cytoplasme et d'un organelle d'attachement/d'alimentation bien développé montré par la flèche sur l'image.</p>
<p><b>Mérontes :</b></p>	 <p><b>m:</b> merozoïtes <b>rb:</b> corps résiduel</p>	<p>-Un cycle de multiplication asexué (merogonie ou schizogonie), mène à la formation de mérontes de type I contenant chacun six à huit merozoïtes.</p> <p>Le méronte est mature, il contient des mérozoïtes (m) qui bourgeonnent à partir du corps résiduel (rb).</p>
<p><b>Microgamontes</b></p>		<p>-Les microgamontes ressemblent aux mérontes mais contiennent de plus petits noyaux. Ils sont rarement observés du fait de leur vie brève. Ce sont des divisions successives dans le microgamonte qui sont à l'origine des microgamètes.</p> <p>-Ils sont une forme en tige avec une extrémité antérieure aplatie.</p>

## Partie bibliographique

<b>Macrogamontes</b>	 <p>fo : organelle nourricier</p>	Les macrogamontes sont caractérisés par la présence de granules d'amylopectine qui les différencient des trophozoïtes. Ils ont une forme sphérique à ovoïde et une taille comprise entre 4 et 6 µm. Il présente une vacuole et un grand noyau en position centrale. Un macrogamonte donne naissance à un seul macrogamète.
<b>Zygote</b>		Zygote mûr mais toujours connecté via l'organelle nourricier à la cellule hôte.

### IV. Facteurs physiques qui réduisent la viabilité des oocystes

Des études de laboratoire ont tenté de déterminer la réduction du nombre des oocystes après exposition à divers stress physiques tels que la chaleur, le froid, la pression et la dessiccation.

#### IV.1. Température

##### IV.1.1. Basses températures

A la température entre 5-15°C, certains oocystes de *C.parvum*, nettoyés des matières fécales et stockés dans l'eau, sont restés infectieux pendant six mois. Lorsque les températures sont descendues en dessous de 5°C ou a augmenté au-dessus de 15°C, la durée de survie a diminué (Trout, 1998) (tableau 3).

Les oocystes de *C. parvum* ont résisté à une congélation égale ou supérieure à -20°C pendant de longues périodes mais n'a pas survécu à -70°C ou moins, même en présence de cryoprotecteurs. L'effet de la congélation et de la décongélation répétées à -10°C sur les oocystes dans le sol ayant une teneur en eau de 3 à 78 % ne différaient

## Partie bibliographique

pas sensiblement des oocystes maintenus à -10 °C sous les conditions statiques. (Xiao, 1997)

**Table 3** Influence des basses températures sur la viabilité de *Cryptosporidium parvum*. (Xiao, 1997)

Temps	Taux de viabilité*				
	à -70°C	à -20°C	à -15°C	à -10°C	à -5°C
1h	0% (6)	100% (6)			
3h		100% (6)			
5h		100% (6)			
8h	0% (6)	17% (6)	100% (12)	100% (12)	
24h	0% (6)	0% (17)	100% (12)	92% (12)_	
168h (soit 7j)		0% (6)	0% (12)	100% (12)	100% (6)

\* : la valeur entre parenthèse indique le nombre d'échantillons testés

### IV.1.2. Hautes températures

Fayer En 1994 a montré que les oocystes peuvent rester infectieux après passage à des températures élevées (moins de la moitié des oocystes est détruite à 67,5°C pendant 1 minute). Des températures égales ou supérieures à 64,2 °C pendant 5 minutes et 72,4°C pendant 1 minute ont rendu les oocystes non infectieux. (Arly, 2001).

## Partie bibliographique

### IV.2. Dessiccation

Pour étudier l'effet de la dessiccation, (Robertson, 1992) ont placé une suspension en oocystes de 50 ul sur lame de verre, qui est ensuite soumise à un air chaud (entre 18°C et 20°C). Après seulement 2 heures, 3 % des oocystes sont toujours viables, mais au bout de 4 heures 100 % des oocystes sont morts.

### V. Les produits chimiques qui réduisent la viabilité des oocystes

#### V.1. Effet des désinfectants

Les oocystes de *C. parvum* présentent une résistance élevée à la plupart des désinfectants classiquement utilisés dans le traitement de l'eau. Korich et al (1990) ont montré que la valeur du **C\*t** (la concentration multipliée par le temps en minutes) pour obtenir 99% d'inactivation des oocystes de *C. parvum* avec de l'ozone est 30 fois plus grande que pour les kystes de *Giardia lamblia* et celle pour obtenir 90% d'inactivation avec du dioxyde de chlore est 14 fois plus grande. (Korich, 1996)

**Table 4** Concentration et temps d'exposition pour 90% d'inactivation de *Cryptosporidium parvum* par différents agents désinfectants. (Korich, 1996)

Agents désinfectants	Concentration	Temps d'exposition	Dose classiquement employée en désinfection
Ozone	1 mg/l	5 min	0,4 mg/l
Dioxyde de chlore	1,3 mg/l	60min	0,2 mg/l
Monochloramine	80 mg/l	90min	
Chlore	80 mg/l	90min	0,5 mg/l

Récemment, de nombreuses études cherchent à inactiver les oocystes de *C. parvum* en associant plusieurs désinfectants dans des conditions déterminées de température et de pH, tel que de **l'ozone et du chlore**, ou de **l'ozone et de la monochloramine**, avec des résultats prometteurs. (Korich, 1996)

## Partie bibliographique

### V.2. Effet d'autres désinfectants gazeux

En 1996 l'efficacité de certains gaz en vue d'une utilisation pour désinfecter des salles, des bâtiments, des outils ou des instruments (tableau 5). Seul un traitement de longue durée par certains gaz comme **le bromométhane, l'oxyde d'éthylène** ou **l'ammoniac** était efficace pour détruire totalement les oocystes (pour l'ammoniac il faudrait traiter pendant 18 heures). Cependant, la majorité de ces gaz ne peut pas être utilisée dans la filière de traitement des eaux classique en raison de leur toxicité. (Fayer., 1996)

**Table 5** Influence de certains gaz désinfectants sur la viabilité de *Cryptosporidium parvum* (Fayer., 1996)

Traitement	Usage habitue / l origine	Taux de viabilité*
<b>Monoxyde de carbone</b>	Gaz toxique provenant d'une combustion incomplète	100% (6)
<b>Oxyde d'éthylène</b>	Agent stérilisant ; fongicide ; désinfectant pour textiles	0% (6)
<b>Bromométhane</b>	Désinfectant pour textile et sols des entrepôts	0% (5)
<b>Ammoniac</b>	Très irritant et très toxique (3 Mil)	0% (5)
<b>Formaldéhyde</b>		60% (10)
<b>«anoxie»</b>		100% (6)

\* : la valeur entre parenthèse montre le nombre d'échantillons testés

## Partie bibliographique

---

### VI. Facteurs environnementaux susceptibles de réduire le nombre d'oocystes

Les effets bénéfiques potentiels de la réduction du nombre d'oocystes qui pénètrent dans les eaux de surface ont été associés à des bandes tampons végétales), des zones humides construites et des étangs. (Derouin, 2002)

Dans des conditions expérimentales, les Rotifères, qui occupent des niches dans l'eau de mer, les rivières, les lacs et les étangs. Les protozoaires prédateurs ont été trouvés en train d'ingérer des oocystes de *C. parvum*. Les mollusques et Crustacés, y compris les huîtres, les palourdes, les moules et les coques, sont des filtreurs qui éliminent les petites particules du milieu aquatique environnant. Des oocystes ont été détectés dans les branchies et les diverticules digestifs de mollusques et de Crustacés dans de nombreuses zones d'eau douce, d'eau de marée et d'eau côtière en Amérique du Nord et Europe. L'impact global sur la réduction du nombre d'oocystes, et par la perte de leur ineffectivité après avoir été retenus par les mollusques est encore inconnue. (Derouin, 2002)

### VII. La cryptosporidiose

#### VII.1. Définition

La cryptosporidiose est une parasitose cosmopolite zoonotique due à un protozoaire du tube digestif appelée *Cryptosporidium* sp. Il existe plusieurs espèces de *Cryptosporidium* les plus fréquente sont *Cryptosporidium hominis* qui infecte seulement les humains et le *Cryptosporidium parvum* qui infecte les humains et d'autres mammifères en particuliers les bovins mais plus rarement les reptiles et poissons. (Appelbee, 2005)

L'infection cryptosporidienne est retrouvé beaucoup plus chez les nouveau-nés des ruminants âgés trois semaines et eu même temps décrit chez des individus de tout âge. (Appelbee, 2005)

C'est une zoonose responsable d'importantes pertes économiques chez les animaux de rente (Bovin, Ovin, Caprin, Equin et Camelin) avec une morbidité élevée. (Fayer, 2004)

### VII.2. Epidémiologie

#### VII.2.1. Répartition géographique

Les espèces de *Cryptosporidium* sont cosmopolites et l'infection a été rapportée dans 95 pays de tous les continents et sous toutes les latitudes tant en zones urbaines qu'en zones rurales, à l'exception de l'Antarctique. La prévalence mondiale de la cryptosporidiose humaine est estimée entre 0,5 et 2 % dans les pays industrialisés et peut dépasser 10 % dans les pays en voie de développement. (Guyot, 2012).

#### VII.2.2. Epidémiologie

D'une façon générale depuis les années 80, un nombre croissant d'épidémies de cryptosporidiose a été recensé. Ainsi il a rapporté que *Cryptosporidium* constituait la quatrième cause de diarrhées confirmées en laboratoire après *Campylobacter*, *Salmonella* et rotavirus. (Drozd, 1996)

De nombreuses éclosions de cryptosporidiose associées à la contamination de l'eau potable ou de l'eau de baignade ont été décrites. Les éclosions liées à des aliments contaminés sont beaucoup moins fréquentes. (Drozd, 1996)

#### VII.2.3. Facteurs favorisant de la contamination

##### a) 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 infectés qui assurent la contamination des ressources hydrique. (Salven, 1955)

##### b) 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 agneaux et les chevreaux.

## Partie bibliographique

---

- L'état de santé des animaux (excrétion des oocystes plus important en cas de diarrhée). (Salven, 1955)

### VII.2.4. Mode de contamination

Les infections à *Cryptosporidium* se transmettent par voie féco-orale.

Un nombre très faible d'oocystes sont suffisants pour transmettre l'infection.

La transmission se fait par ingestion d'oocystes :

— Par contact indirect:

- Via l'eau utilisée pour la désinfection, le personnel qui s'occupe des animaux, les locaux ou le matériel utilisé.
- Via l'eau et les aliments souillés par des oocystes d'origine humaine ou animale. (Guyot, 2012)

— Par contact direct : contact avec un sujet ou un animal infecté. (Guyot, 2012)

Les oocystes sont très souvent retrouvés dans les eaux de surface:

- Consommation d'eau souillée.
- Baignade dans une eau contaminée.
- Dépôt de fumier sur les prairies.
- Contacte directe entre les agneaux et les surfaces aquatiques.
- Transmission alimentaire.

### VII.2.5. Doses infectantes chez l'homme

Si un faible nombre d'oocystes semble capable d'induire la maladie chez l'homme, la dose minimale infectante n'est cependant pas connue avec précision. (Ottawa, 2019)

L'ingestion d'une quantité relativement faible d'oocystes est infectante : la dose minimale infectante (DMI) chez des sujets immunocompétents (volontaires sains) est de 132 oocystes en moyenne et on estime qu'elle est inférieure à 10

## Partie bibliographique

---

oocystes chez les patients immunodéprimés. Ces valeurs ne sont qu'indicatives car on observe des différences de virulence suivant les souches ont été observé ainsi, les DMI de trois souches distinctes de *C. parvum* sont respectivement de 9 (souche TAMU), 87 (souche IOWA) et 1 042 oocystes (souche UCP) chez des volontaires sains séronégatifs pour la cryptosporidiose. Le risque de contracter une infection à *Cryptosporidium* varie également selon la réceptivité de l'individu qui est fonction de son âge, de l'état de son système immunitaire, des antécédents d'exposition et d'autres facteurs génétiques et environnementaux. (Guyot, 2012)

### VII.3. Tableau clinique:

#### VII.3.1. Chez l'humain

L'infection peut se manifester par une diarrhée, des crampes abdominales, des maux de tête, des nausées, des vomissements et une légère fièvre. Dans les cas les plus graves, les premiers symptômes peuvent persister et donner lieu à une perte de poids et à une déshydratation. (Fleming, 2004)

Ce ne sont pas toutes les personnes exposées au protozoaire qui tombent malades. Lorsque l'infection se manifeste, elle peut se résorber sans traitement de soutien. Il arrive souvent que des personnes infectées ne présentent aucun symptôme, mais elles peuvent quand même transmettre la maladie. (Fleming, 2004)

Les personnes ayant un système immunitaire déficient, sont les plus durement touchées par cette infection. Dans leur cas, les symptômes peuvent durer longtemps. Les personnes qui suivent une chimiothérapie, ont récemment eu une transplantation ou sont atteintes du SIDA, de même que les aînés et les jeunes enfants sont les personnes qui risquent le plus d'être durement touchées. (Fleming, 2004)

#### VII.3.2. Chez les animaux

Les symptômes sont semblables à ceux rencontrés chez l'humain, et l'infection touche principalement les jeunes bêtes. Ainsi, les veaux sont généralement infectés avant l'âge de 6 semaines. D'ailleurs environ 25 % des veaux atteints de diarrhée entre l'âge de 5 jours et 1 mois sont infectés par le *C. parvum*. Les symptômes d'une infection grave comprennent une diarrhée aqueuse et jaunâtre (contenant parfois des traces de sang), une légère fièvre, la déshydratation et la léthargie. Les infections

## Partie bibliographique

---

chroniques se caractérisent quand à elles par des selles partiellement moulées, peu ou pas de fièvre et une perte de poids. Les infections graves affectent les jeunes animaux et sont associées à une ingestion insuffisante de colostrum, à un troupeau trop nombreux et à un manque de propreté. L'infection peut subsister pendant des mois et il peut être excessivement difficile de s'en défaire. (Fleming, 2004)

### VII.4. Diagnostic de la cryptosporidiose

Le diagnostic précis de l'infection par *Cryptosporidium* est essentiel pour son contrôle et pour la compréhension de son épidémiologie. Les symptômes de la cryptosporidiose n'étant pas assez spécifiques pour permettre de les distinguer de ceux causés par les agents de gastro-entérite d'origine bactérienne, virale ou parasitaire, il est donc nécessaire de recourir à différentes techniques de diagnostic parasitologique ou biologique (Tableau 6). Ainsi, l'examen microscopique est utile pour rechercher la présence d'oocystes dans les différents types d'échantillons biologiques (selles, liquide d'aspiration duodénale, biopsie, liquide de lavage broncho-alvéolaire, etc.). Cependant, ils ne sont pas facilement identifiables lors d'un examen parasitologique classique et une recherche en utilisant des techniques de coloration spécifiques est conseillée pour l'observation microscopique. Plusieurs techniques de coloration appliquée sur des frottis obtenus directement ou après concentration des produits biologiques permettent de détecter *Cryptosporidium* et celle de référence est la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée : les oocystes sont colorés en rouge par la carbo-fuchsine alors que les selles apparaissent en vert ou en bleu par contre-coloration avec la vert malachite (Benamrouz., 2014).

Cependant, d'autres techniques de coloration (fluorescentes ou non) sont disponibles parmi lesquelles la technique de Heine (1982), qui repose sur les propriétés réfringentes des oocystes, apparaît bien plus rapide et sensible que la coloration de Ziehl-Neelsen, suggérant ainsi une évolution probable de la technique de référence microscopique. De plus, l'hématoxyline et l'éosine peuvent être utilisés pour la confirmation histologique du diagnostic lorsque des biopsies sont disponibles.

Des techniques immunologiques ont aussi été développées pour le diagnostic de *Cryptosporidium*. Une capture de copro-antigènes est possible par la technique

## Partie bibliographique

ELISA ainsi qu'un marquage des cryptosporidies par un anticorps spécifique couplé à un fluorochrome.

Toutefois, l'avènement des techniques moléculaires (PCR nichée ou PCR quantitative en temps réel, PCR-RFLP, analyse microsatellite...) a permis d'obtenir une meilleure sensibilité diagnostique et d'identifier les différentes espèces et divers sous-types de *Cryptosporidium*. La quantité et la qualité de l'échantillon biologique analysé ainsi que l'abondance des oocystes ou d'antigènes sont naturellement des facteurs déterminant le succès de la détection. Pour un diagnostic précis, plusieurs examens d'échantillons sont nécessaires, en particulier dans le cas d'infections subcliniques. Les oocystes étant excrétés par intermittence, l'idéal est d'examiner si possible trois échantillons de fèces collectées un jour sur deux. (Benamrouz., 2014) (Guyot, 2012)

**Table 6** : Méthodes de détection de *Cryptosporidium* (Benamrouz., 2014)

Méthodes		Exemples	Description	Avantages	Désavantages
Microscopiques,	Colorations	Ziehl–Neelsen modifiée (1981)	Oocystes apparaissant en rouge sur un fond vert ou bleu et mesurant entre 5 et 6 µm de diamètre  Oocystes pouvant présenter une vacuole apparaissant comme une zone plus claire	-Largement disponible - Rapide -Spécifique -Faible coût	-Faible sensibilité -Nécessite d'effectuer la lecture au moins à l'objectif x40 - Nécessite des techniciens qualifiés pour l'observation
		Auramine-Phénol	Parasites apparaissant jaune verdâtre brillant sur un fond foncé	-Rapide -Spécifique - Sensible -Permet la différenciation	-Coûteux -Nécessite un microscope à fluorescence -Requiert l'utilisation de

## Partie bibliographique

				entres les oocystes pleins et vides	produits toxiques
		Heine (1982)	Oocystes apparaissant très réfringents, on colorés, avec un point sombre au centre, sur un fond rouge	-Sensible	-Nécessite un microscope à contraste de phase -Réfringence ne durant qu'une quinzaine de minute
Immunologique	Identification du parasite	Immunofluorescence (Grimason, 1994)	Permet l'identification des oocystes par un anticorps monoclonal couplé à un fluorochrome Oocystes fluorescents en périphérie (paroi de l'oocyste)	-Bonne sensibilité - Bonne spécificité -Examen rapide à faible Grossissement -Intéressant pour le diagnostic des paucifestions et les études épidémiologiques	-Coûteux -Nécessite un microscope à Fluorescence -Relativement long
	Détection de coproantigènes dans les selles	ELISA (Grimason, 1994)	permettent de détecter la présence d'antigènes parasitaires dans des extraits	Technique automatisée Utilisée pour les enquêtes de masse	-Coûteux - Équipement indispensable -Sensibilité et spécificité

## Partie bibliographique

			fécaux liquides. La spécificité des kits proposes est élevée (avoisine les 100%), mais leur sensibilité a été évaluée entre 50 et 87% pour <i>C. parvum</i> et <i>C. hominis</i> et a moins de 35% pour les autres espèces de <i>Cryptosporidium</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Rapide</li> <li>- Bonne sensibilité</li> <li>- Ne nécessite pas de concentration des matières fécales avant le traitement des échantillons</li> <li>- Bonne spécificité</li> <li>- Simple</li> <li>- Automatisable</li> </ul>	dépendants de la quantité d'oocystes
Moléculaire	PCR nichée (Voet, 1998)		Utilise deux paires d'amorces pour amplifier une partie d'un gène	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Excellente sensibilité</li> <li>- Technique automatisée et reproductible</li> <li>- Permet la détermination de l'espèce et du subtype après séquençage des produits de PCR</li> <li>- Permet la quantification</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Instrumentation coûteuse</li> <li>- Techniquement exigeant</li> <li>- Besoin de techniciens qualifiés</li> <li>- Technique ne fournissant pas de données sur la viabilité et l'infectiosité du parasite</li> </ul>

## Partie bibliographique

---

				n -Possibilité de combiner en multiplex pour des entéropathog ènes supplémentai res	
--	--	--	--	---	--

### VII.5. Traitement

Aucune thérapie sûre et efficace pour l'entérite cryptosporidienne n'a été développé avec succès. La cryptosporidiose est une maladie autolimitée chez les individus immunocompétents, c'est pourquoi, des soins généraux de supports sont le seul traitement pour la maladie. La réhydratation par des électrolytes de remplacement par voie orale ou intraveineuse peut être nécessaire pour la diarrhée aqueuse. (Fecteau, 2002).

Selon Farthing (2000) ce type de traitement est utilisé pour les sujets immunodéprimés (surtout les sidéens). Il vise à améliorer les fonctions immunitaires avec une thérapie antirétrovirale hautement active qui peut aider à la résolution de l'infection cryptosporidienne. Si la thérapie antirétrovirale n'est pas possible ou peu efficace, celle-ci doit être combinée avec un agent antimicrobien, et un agent anti-diarrhéique doit être un traitement standard pour les diarrhées cryptosporidienne. (Farthing, 2000)

### VII.6. Prévention

Prévenir en amont la contamination de l'eau et des aliments.

Suivre les recommandations individuelles d'hygiène, en particulier pour les patients immunodéprimés et les personnes les plus exposées :

- Lavage des mains et des aliments

## Partie bibliographique

---

- Éviter le contact avec des selles humaines (couches), objets et linges souillés par des selles
- Éviter le contact avec des animaux susceptibles d’être contaminés (jeunes veaux)
- Être averti du risque de baignade en eaux non contrôlées (lacs, rivières, bases de loisirs qui peuvent être contaminées)
- Éviter de boire de l’eau provenant d’une source douteuse, pouvant avoir été contaminée en amont
- En cas de doute sur l’eau potable, boire de l’eau encapsulée, des jus pasteurisés (éviter les jus de fruits frais et les glaces)
- Recommander une hygiène renforcée aux voyageurs séjournant dans des pays à faible niveau d’hygiène. (Guyot, 2012)



**Partie Pratique**

### I. Matériel et méthodes

#### I.1. Présentation de la région d'études

La présente étude a été réalisée sur le territoire de la wilaya de Guelma. Cette région est située au Nord- Est du pays (figure 4), et occupe une position médiane entre le Nord du pays, les hauts plateaux et le Sud. Elle est caractérisée par un climat subhumide au niveau du centre et du Nord et un climat semi-aride en allant vers le sud. Comme tout climat méditerranéen ; l'hiver est pluvieux, l'été est très chaud avec une forte chaleur.



**Figure 4** : Localisation de la wilaya de Guelma (Google maps 2020)

#### I.2. Présentation de la démarche scientifique

Notre étude expérimentale consiste à analyser des eaux de plusieurs points d'eaux. L'objectif est de rechercher et d'identifier *Cryptosporidium parvum*. Nous avons effectué des prélèvements d'échantillons d'eau au niveau de 10 points à travers différentes régions de Guelma, son ton cheminés au laboratoire de faculté des Sciences de la Nature et la Vie et des Sciences de l'Univers par l'intermédiaire d'une glacière à 5°C.

Par ailleurs, 17 prélèvements d'eau sont transportés et examinés au laboratoire de la Faculté de biologie de Guelma A noter que tous nos prélèvements ont été effectués durant de la période allant du mois de Mars 2020.

### **I.3. Matériel**

#### **I.3.1. Matériel biologique**

- L'eau

Les différentes eaux prélevées sont issues de plusieurs régions de Guelma.

Les 17 points d'eau sont :

- Sources
- Puits
- Eau de robinet

Pour chaque prélèvement, 1L d'eau ont été prélevés dans des bouteilles préalablement désinfectés à l'eau de javel

#### **I.3.2. Appareillage**

- La trompe de filtration d'eau
- Centrifugeuse
- Microscope optique

#### **I.3.3. Matériel de prélèvements**

- Des gants
- Glacière pour conservation des prélèvements
- Boites en plastique stérilisée
- Appareil photo
- GPS
- Crayon
- Carnet de note
- Etiquettes

#### **I.3.4. Matériel utilisée**

- Lames et lamelles
- Bêcher.
- Tube de centrifugation

## Partie pratique

---

- Spatule.
- Pipette Pasteur.
- Portoirs.
- Bacs à coloration.
- Pincés.
- Eau de robinet.
- Des filtres de 0,45 $\mu$ m de porosité.
- Boites de Pétri.
- Huile à émmersion.
- Eau de javel

### I.3.5. Matériel chimique

- Méthanol pur.
- Fuchsine phéniquée.
- Vert malachite à 5%.
- Acide sulfurique à 2%/.

### I.4. Méthode

#### I.4.1. Technique de filtration de l'eau (Ouchene, 2008)

- Déposer les filtres de 0,45 $\mu$ m de porosité dans la rampe de filtration.
- Faire fonctionner l'appareil pour filtrer l'eau.
- Récupérer les filtres et les déposer dans une boîte de Pétri.
- Laver les filtres avec de l'eau physiologique dans un bêcher.
- Verser le contenu du bêcher dans un tube à centrifugation.
- Centrifuger à 2500 tours/minute pendant 5 minutes.
- Récupérer le culot.
- Confectionner un frottis à partir du culot.

## Partie pratique

---

### I.4.2. Technique de coloration de Ziehl-Neelsen modifiée par Henriksen et Pohlenz (Guillaume, 2007)

C'est une technique spécifique pour la coloration des oocystes de *Cryptosporidium* sp.

- Préparation du frottis :

- Déposer une goutte du culot à l'extrémité d'une lame avec pipette Pasteur.
- Placer sur la goutte une lamelle inclinée à 45°C de façon à ce que le culot s'étale sous la lamelle par capillarité.
- Glisser la lamelle maintenue 45°C le long de la lame pour l'étaler uniformément la goutte.

- Laisser le frottis sécher à l'air.

- Fixer le frottis par le méthanol pendant 5 minutes.

- Sécher de nouveau.

- Colorer la lame dans un bain de fuchsine phéniquée pendant 1 heure.

- Rincer sous l'eau du robinet.

- Différencier avec l'acide sulfurique à 2 % pendant 20 secondes.

- Rincer sous eau du robinet.

- Colorer par le vert malachite à 5 % pendant 5 minutes.

- Rincer de nouveau.

- Séchage à l'air.

- Observation microscopique : La lecture du frottis coloré se fait au microscope optique au grossissement  $\times 40$  puis  $\times 100$  (objectif à émmersion). La lecture doit se faire sur toute la surface de la lame.

Le diagnostic est considéré positif, quand les oocystes de *Cryptosporidium* sp.

Apparaissent en rouge-vif sur un fond vert (vert malachite), ils se présentent sous forme d'éléments arrondis de 2 à 6  $\mu\text{m}$  de diamètre et renfermant de grosses

## Partie pratique

granulations noirâtres. Il est considéré négatif quand aucun oocyste n'est visualisé après observation de 100 champs microscopiques. (Khelef, 2007)

### II. Résultats et interprétations

#### II.1. Résultats des stations de prélèvements

Le tableau N 07 représente les différents de prélèvements (17 prélèvements) qui sont analysés au niveau du laboratoire de notre université.

Malheureusement, nous n'avons pas effectué que quelque observation microscopique à cause de la conjoncture du Covid 19.

**Table 7** : Distribution des sources du prélèvement et leurs résultats

Commune	Dates de prélèvement	Source	Type de source	élevage	Dates de l'Analyse	Résultats
	28/02/2020	Houara	Etang	Oui	01/03/2020	+
Ben Mezline	01/03/2020	Ferme Soury	Etang	Oui	02/03/2020	+
Ain Makhlouf	29/02/2020	Ain El Blad	Bassin	Oui	02/03/2020	
Ain Makhlouf	29/02/2020	Ain Chtatha	Bassin	Oui	02/03/2020	
	01/03/2020	Ain Daoud	Etang	Oui	02/03/2020	
Ain Makhlouf	29/02/2020	Ain Tafira	Bassin	Oui	02/03/2020	
Ain Souda	06/03/2020	Ain Sandal	Bassin	Oui	08/03/2020	-
Ain Souda	06/03/2020	Ain Souda	Bassin	Oui	08/03/2020	-
Ain Souda	06/03/2020	Ain kotan	Oued	Oui	08/03/2020	
Bouhchana	06/03/2020	Bouhchana	Barrage	Oui	08/03/2020	
Oued Zenati	07/03/2020	Oued Sidi Abidi	Oued	Oui	09/03/2020	
Tamlouka	07/03/2020	Oued Selawa	Oued	Oui	09/03/2020	
Tamlouka	07/03/2020	Oued Brhab	Oued	Oui	09/03/2020	

## Partie pratique

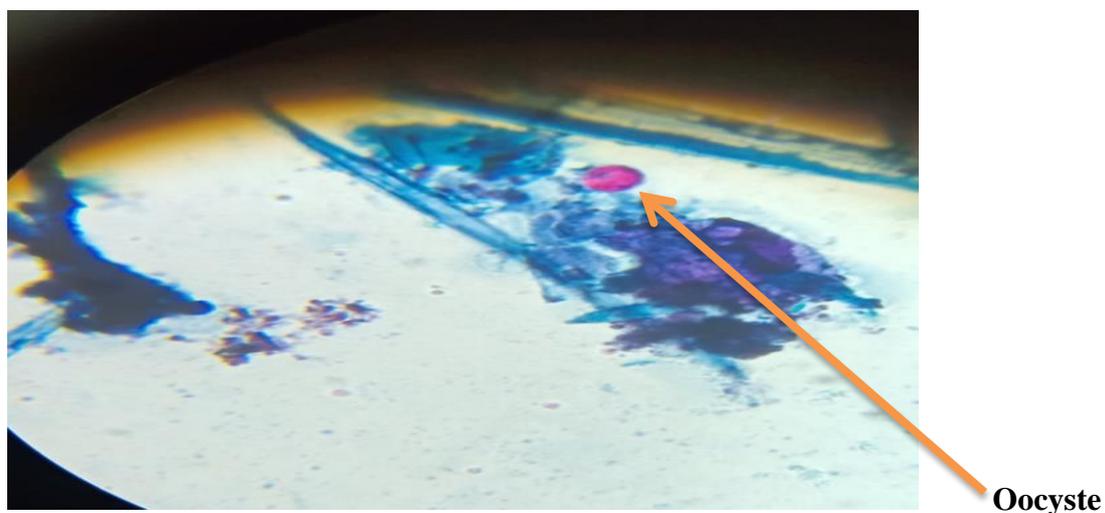
Ain Makhlouf	07/03/2020	Kitaa	Puit	Non	09/03/2020	
Ain Makhlouf	07/03/2020	Sabàa Mzayre	Puit	Non	09/03/2020	
Oued Zenati	07/03/2020	Ain Tarab	Bassin	Oui	09/03/2020	
Ain Makhlouf	07/03/2020	Beljoudi	Etang	Oui	09/03/2020	+

Depuis le tableau N 08 nous pouvons constater que le *C. parvum* quand même présent dans la région de Guelma et mérité suivi d'avantage.

La coloration de Zeil-Neelson des échantillons d'eau a permis de confirmer les oocystes dans nos prélèvements. (figure 5)

**Table 8** : Distribution des prélèvements analysés.

Nombre des prélèvements	Positif	Négatif	Absence de résultats
17	3	2	12



**Figure 5** : Observation microscopique d'oocyste (grossissement  $\times 100$ )

## II.2. Interprétation

## Partie pratique

---

Plusieurs types de microorganismes peuvent se retrouver dans l'eau et causer des infections. Notre étude qui s'est étalée sur une période de 01 mois afin de la rechercher des parasites à transmission hydrique *Cryptosporidium parvum*.

Les données publiées à partir de plusieurs auteurs au début des années 1980 ont montré que les veaux sont la principale source d'infection humaine. Les animaux de compagnie peuvent également servir d'hôtes réservoirs. Ces résultats, ont conduit à l'idée que la plupart des infections humaines sont le résultat de transmission zoonotique. Ce point de vue est probablement correct pour les personnes vivant et travaillant dans des environnements où l'exposition de contamination fécale (notamment à base d'eau) est élevée. (Dadda, 2014)

La voie de contamination est surtout orale, plusieurs sources jouent un rôle très important dans la dissémination de l'infestation telle que les points d'eau collectifs, les vaches excrétrices, les boxes et zones de parcage des veaux contaminés. Le degré d'infestation est variable en fonction de la sensibilité individuelle, étroitement lié à l'âge et l'immunité passive et acquise du nouveau-né. (Dadda, 2014)

Selon des études sur la cryptosporidiose bovine dans la région de Guelma la prévalence de cette maladie dans la population étudiée est de 84,40% (Maaichia, 2019), ce qui est en accord avec les résultats révélés à Constantine qui indique une prévalence de 88,88% (Ouchene., 2008), ces résultats sont également supérieur à ceux rapportés par Ouchene et *al* (2008) dans la wilaya de Sétif qui ont indiquées une prévalence de 25,5% et Akam et al (2007) indique prévalence de 33,33% à 54% dans la région de Mitidja (Blida). (Khelef., 2007)

Ces prévalences confirment que la cryptosporidiose est répandue dans l'élevage bovin en Algérie. La présence élevée des cryptosporidies dans les élevages dont les conditions d'hygiènes sont mauvaises révèle le rôle important de l'hygiène. Chez les veaux, les maternités collectives, la surpopulation, le stress d'un sevrage trop précoce, ... contribuent à une augmentation du risque de cryptosporidiose clinique surtout lorsque les animaux sont maintenus dans de mauvaises conditions d'hygiène (Boulday, 2000). Un faible niveau d'hygiène a été plusieurs fois évoqué pour favoriser la contamination par les cryptosporidies.

## Partie pratique

---

En Algérie, chez les agneaux, peu de données sont disponibles sur la prévalence et encore moins sur l'épidémiologie en relation avec les facteurs de risques associés à la maladie.

Une étude réalisée par Dahmani et *al* (2015) sur la Prévalence de *Cryptosporidium sp* chez les agneaux dans la région de centre d'Algérie montre que la prévalence de *Cryptosporidium sp* au niveau du troupeau se situe à 86 % cela considéré comme un problème endémique. L'âge, l'hygiène et la période d'agnelage sont des facteurs de risque de l'infection et semblent jouer un rôle prépondérant dans le maintien d'infection chez les agneaux.

# Conclusion

## Conclusion

---

### Conclusion

Le *Cryptosporidium* est un micro-organisme pathogène de taille relativement grande se reproduisant dans le tractus gastro-intestinal des êtres humains et des animaux, et ne peuvent pas se multiplier dans l'environnement, mais survivent plus longtemps dans l'eau et reste plus infectieux et plus résistants à la désinfection que la plupart des autres micro-organismes.

Sur une période d'un mois, nous avons analysé plusieurs points d'eau (étang, Ain, oued, puits) au hasard dans la région de Guelma, où la fréquentation des animaux d'élevage bovin et ovin est importante.

Malheureusement en raison des conditions exceptionnelles dont passe notre pays (Covid 19), nous n'avons pas pu achever nos expérimentations.

Enfin, les moyens de prophylaxie basés surtout sur la désinfection du milieu extérieur afin d'éliminer ou de réduire la sévérité de la source d'infection sont importants. A cet effet nous devrions respecter les règles d'hygiène élémentaire en élevage, à savoir le retrait quotidien des matières fécales et le nettoyage suivi d'une désinfection avec utilisation régulière de produits à base d'ammoniaque ou de procédés utilisant la chaleur.

## **Références Bibliographie**

## Références Bibliographie

---

### Références Bibliographiques

- Angus, K. W. (1983). Cryptosporidiosis in man, domestic animals and birds. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 62-70.
- Appelbee, A. J. (2005). *Giardia* and *Cryptosporidium* in mammalian wildlife—current status and future needs. *Trends in parasitology*, 370-376.
- Arly, X. (2001). Transport D'un Micro-Organisme En Milieu Poreux Saturé- Cas D'un Colloïde Biologique : *Cryptosporidium Parvum*.
- Baillargeon, J. (2004). Etude sur la contamination du colostrum bovin par des.
- Benamrouz, S. (2012). Infection par *Cryptosporidium sp.* du modèle souris SCID traité à la dexaméthasone : caractérisation cellulaire et moléculaire du processus de cancérisation. Thèse, Médecine humaine et pathologie, Lille France.
- Benamrouz., C. V. (2014). *Cryptosporidium parvum*-induced ileo-caecal adenocarcinoma and Wnt signaling in a. 693-700.
- Boulday. (2000). La cryptosporidiose bovine- analyse de marche en France, résultats épidémiologiques : approche de positionnement de Lactate d'halofuginone. Thèse docteur vétérinaire, France.
- Carey, C. H. (2004). Biology, persistence and detection of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis* oocyst. 818–862.
- Certad, G. (2008). De la caractérisation génétique et phénotypique de *Cryptosporidium* (Alveolata: Apicomplexa) à la mise en évidence du rôle de *C. parvum* dans l'induction de néoplasie digestive. Université du Droit et de la Santé - Lille II France 201
- Currentt, S. J. (2015). The Species of *Cryptosporidium* (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) Infecting Mammals. *The Journal of Parasitology*, 71, 625-629.
- Dadda. (2014). Incidence et Étiologie de la diarrhée Néonatale Du Veau Dans La Wilaya De Blida. Mémoire de Magister, Blida.138
- Dahmani H. (1), H. A. (2015). Prévalence et facteurs de risques de *Cryptosporidium spp.* chez les agneaux dans la région de centre d'Algérie. *Renc. Rech. Ruminants*, 168.
- Derouin, F. (2002). Rapport sur les « Infections à protozoaires liées aux aliments et à l'eau » : « Evaluation scientifique *Cryptosporidium sp.* ».

## Références Bibliographie

---

- Drozd, C. (1996). Comportement de *Cryptosporidium sp.* dans l'eau:conséquences au niveau de la microfiltration tangentielle. France: Université ,Henri Poincare - Nancy 1.France
- Farthing, M. J. (2000). Clinical Aspects of Human Cryptosporidiosis. Contributions to microbiology, 50-74.
- Fayer (2004). Cryptosporidium: a water-borne zoonotic parasite. Veterinary Parasitology. Veterinary Parasitology, 37–56.
- Fayer, R. L. (1999). *Cryptosporidium parvum* in oysters from commercial harvesting sites in the Chesapeake Bay. Emerging infectious diseases, 706.
- Fayer., N. (1996). Effects of low temperatures on viability of *Cryptosporidium parvum* oocysts. Applied and Environmental Microbiology, 1431-1433.
- Fecteau, G. B. (2002). La santé du nouveau-né: défis actuels et futurs.
- Fleming. ( 2004). Cryptosporidium : Votre eau en contient-elle? University of Guelph
- Grimason, A. M. (1994). Application of DAPI and immunofluorescence for enhanced identification of *Cryptosporidium spp* oocysts in water samples. Water Research, . 733-735.
- Guillaume, V. (2007). Parasitologie auto-évaluation Manipulations De boeck et larcier.
- Guyot, K. S. (2012). Actualités sur l'épidémiologie et le diagnostic de la cryptosporidiose. Feuillet de Biologie, 21-29.
- Khelef, D. (2007). Enquête épidémiologique sur les diarrhées néonatales du veau dans certains élevages du centre et de l'est de l'Algérie et essai de prophylaxie (thèse). El-Harrache Alger.Algeria
- Khelef. et al (2007). Épidémiologie de la cryptosporidiose chez les bovins en Algérie. Revue Méd. Vé, 158, 260-264.
- Kihal., F. /. (2015). Etude bibliographique sur la cryptosporidiose chez les ovins et les caprins. Blida.
- Kim, S. C.-G. (2006). Concurrent response to challenge infection with *Cryptosporidium parvum* in immunosuppressed C57BL/6N mice. Journal of veterinary science, 47–51.
- Korich, T. W. (1996). An outbreak of waterborne cryptosporidiosis in Kanagawa, Japan. Kansenshogaku zasshi. he Journal of the Japanese Association for Infectious Diseases, 132.

## Références Bibliographie

---

- Maaichia, G. K. (2019). Contribution à l'étude de la cryptosporidiose bovine dans la region de Guelma. Université se Guelma.
- Mackenzie, H. N. (1994). A massive outbreak in Milwaukee of *Cryptosporidium* infection transmitted through the public water supply. 161-167.
- Nime, F. A. (1976). Acute enterocolitis in a human being infected with the protozoan *Cryptosporidium*. *Gastroenterology*, 592-598.
- Ottawa. (2019). Recommandations pour la qualité de l'eau Document technique Les protozoaires entériques: *Giardia et Cryptosporidium*.
- Ouchene, et al (2008). Recueil des 3èmes journées d'Épidémiologie de la cryptosporidiose bovine dans la région du Nord Est Algérien.
- Ouchene., K. (2008). Etude de la cryptosporidiose bovine dans la région de Constantine., *Revue Algérienne des Sciences A*, 46-49.
- Robertson, L. J. (1992). Survival of *Cryptosporidium parvum* oocysts under various environmental pressures. *Applied and Environmental Microbiology*, 3494-3500.
- Royer, S. (2015). Detection Et Caractérisation Moléculaire De *Cryptosporidium* Lors De Diarrhées Chez Le Veau Non Sevré Dans Une Clientèle Allaitante. Lyon.
- Salven. (1955). *cryptosporidium meleagridis.sp.* *Journal of Comparative Pathology and Therapeutics*, 65, 262- 266.
- Toudert, L. ., (2015). Contribution à l'étude transmission hydrique dans la région de Tizi-Ouzou.
- Trout, J. J. (1998). Infectivity of *Cryptosporidium parvum* oocysts stored in water at environmental temperatures. *The Journal of parasitology*, 1165-1169.
- Valigurová, A. J. (2008). Cryptosporidia: epicellular parasites embraced by the host cell membrane. *International journal for parasitology*, 913-922.
- Voet, D. V. (1998). *Biochimie*, De Boeck, Paris.
- Ward, H. C. (1998). -*Cryptosporidium* : molecular basis of host-parasite interaction. In *Advances in parasitology*, 151-185.
- Xiao, F. L. (1997). *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis, Second Edition.

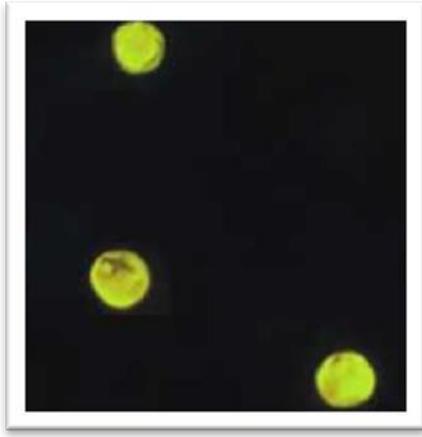
# **Annexe**

## Annexe

---

### Liste des annexes

#### ANNEXE 1



coloration d'oocystes de *Cryptosporidium*  
à l'auramine-rhodamine

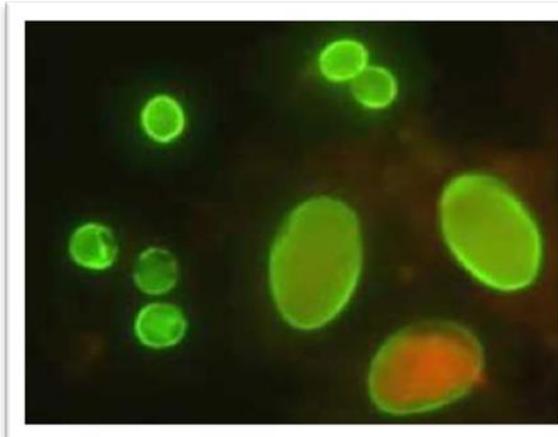
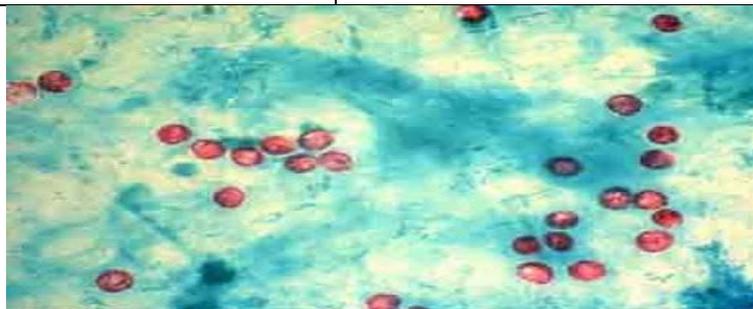


Image d'oocystes de *Cryptosporidium* (en haut à gauche) révélés par des anticorps immunofluorescents



Coloration par la technique de Zeil-Neelson

# Annexe

## ANNEXE 2

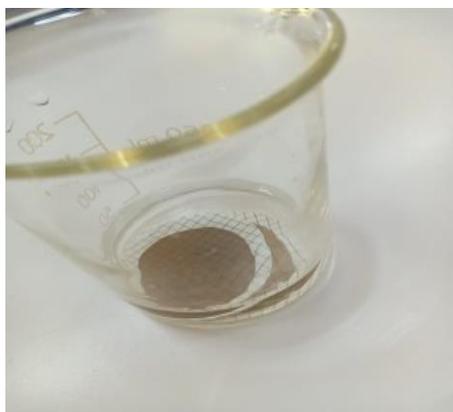
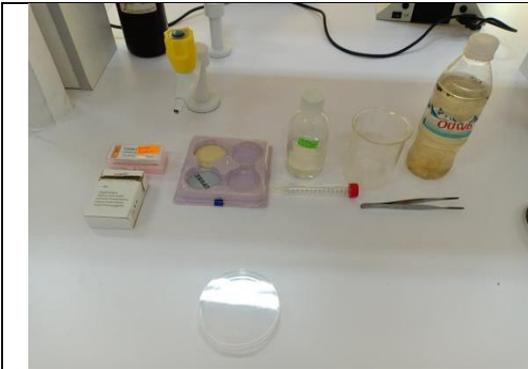
Quelques Figures des sources

	
<p>Houara</p>	<p>Bire El Kataa</p>
	
<p>Ain Ben Chtah</p>	<p>Etang Beljoudi</p>
	
<p>Ain Elblad</p>	<p>Bire Saba Mezayre</p>
	
<p>Ain Tafira</p>	

# Annexe

## ANNEXE 3

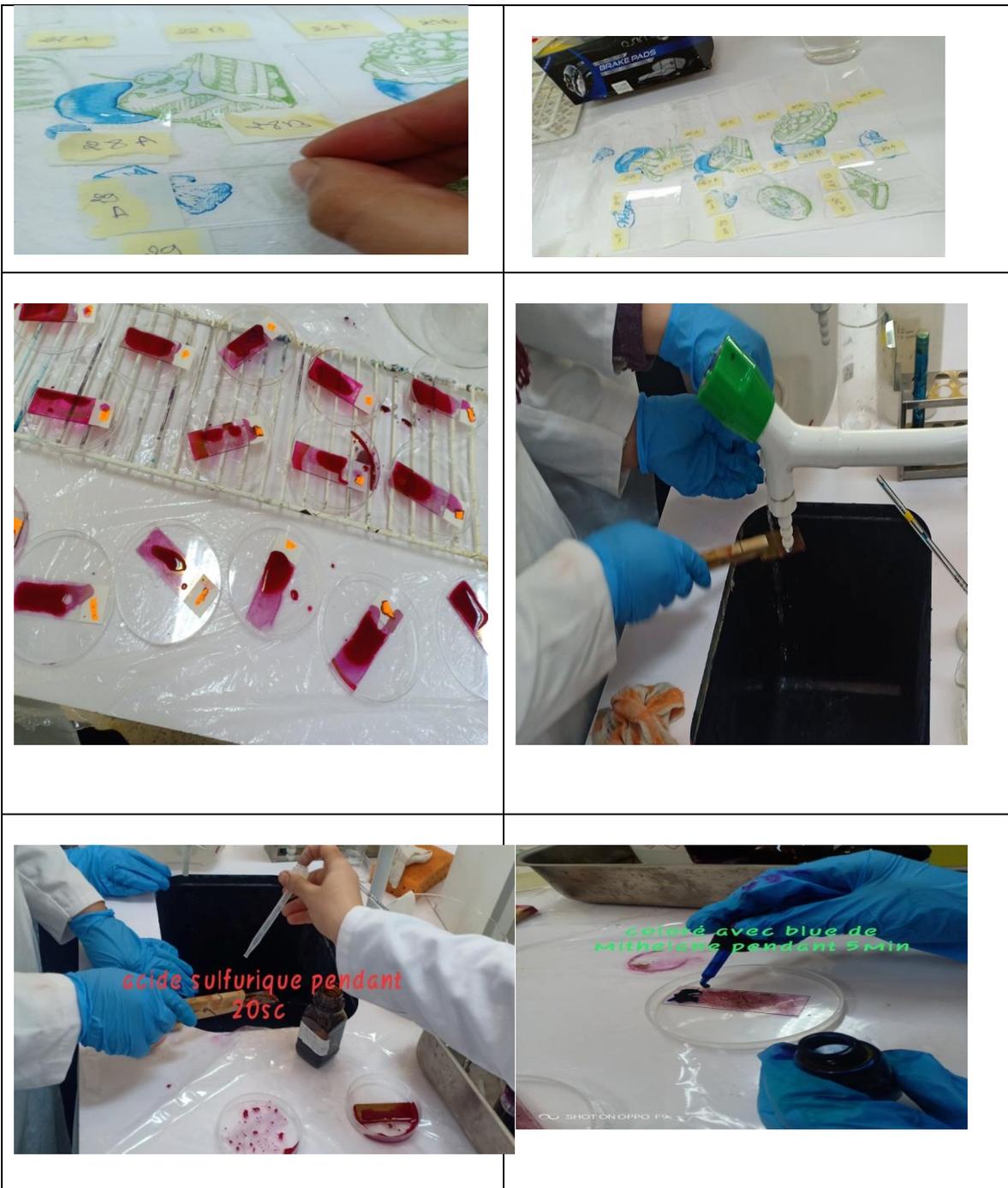
### Technique de filtration de l'eau



# Annexe

## ANNEXE 4

### Technique de coloration de Ziehl-Neelsen



## Résumé

*Cryptosporidium* est un protozoaire très largement répandu dans le monde décrit en 1907 appartenant à l'ordre des Coccidies, phylum Apicomplexa. Son cycle comporte une multiplication asexuée (schizogonie) et une multiplication sexuée (gamogonie) conduisant à la formation d'oocystes matures qui sont éliminés dans les selles et sont directement infectants. Les différents stades intracellulaires se développent dans les cellules épithéliales intestinales. Les oocystes de *C. parvum* présentent une résistance élevée à la plupart des désinfectants chimiques, De même que les traitements classiques des eaux (filtration et chloration). La cryptosporidiose est une zoonose cosmopolite transmettent par voie féco-orale. il est responsable de diarrhées spontanément résolutive chez les patients immunocompétents, et de diarrhées chroniques graves chez les malades immunodéprimés. Les possibilités de traitement de la cryptosporidiose sont actuellement limitées, en l'absence de médicament capable d'éliminer le parasite. Le diagnostic de la cryptosporidiose repose sur la mise en évidence des oocystes dans les selles et l'eau. La prévention de la cryptosporidiose est à la fois individuelle et collective, basée sur l'hygiène alimentaire et individuelle et la protection des ressources d'eau contre une contamination environnementale d'origine humaine. Durant la présente étude est consacré à la recherche *C. parvum* dans différents points d'eaux dans la région de Guelma. Sur les 17 prélèvements d'eau filtré par la technique de filtration et suivies par la technique de concentration et colorés par la coloration de Ziehl-Nelson modifiée, nous avons pas confirmé la présence de ce parasitose dans l'eau de Guelma. Expliquant par voie de conséquence la poursuite de cette étude.

**Mots clés :** *Cryptosporidium parvum*, Eau, Cryptosporidiose, Guelma, Coloration Zeil-Neelson.

## **Abstract**

Cryptosporidium is a worldwide widespread protozoan described in 1907 as belonging to the order Coccidia, phylum Apicomplexa, whose cycle includes asexual multiplication (schizogony) and sexual multiplication (gamogony) leading to the formation of mature oocysts that are eliminated in the stool and are directly infective. *C.parvum* oocysts are highly resistant to most chemical disinfectants, as well as to conventional water treatment (filtration and chlorination). Cryptosporidiosis is a cosmopolitan zoonosis transmitted by fecal-oral route. It is responsible for spontaneously resolving diarrhea in immunocompetent patients, and severe chronic diarrhea in immunocompromised patients. The possibilities for treating cryptosporidiosis are currently limited, in the absence of a drug capable of eliminating the parasite. The diagnosis of cryptosporidiosis is based on the detection of oocysts in the stool and water. The prevention of cryptosporidiosis is both individual and collective, based on food and personal hygiene and the protection of water resources against environmental contamination of human origin. The present study is devoted to *C.parvum* research in different water points in the Guelma region. Of the 17 water samples filtered by the filtration technique and followed by the concentration technique and stained by the modified Ziehl-Nelson stain, we did not confirm the presence of this parasitosis in the Guelma water. Explaining consequently the continuation of this study.

**Key words:** *Cryptosporidium parvum*, Water, Cryptosporidiosis, Guelma, Zeil-Nelson staining.

كريبتوسبورديوم هو طفيلي منتشر على نطاق واسع في العالم موصوف في عام 1907 ينتمي إلى رتبة Coccidia، phylum Apicomplexa. تتضمن دورته الضرب اللاجنسي (الفصام) والتكاثر الجنسي (gamogony) مما يؤدي إلى تكوين البويضات الناضجة تفرز في البراز وتكون معدية بشكل مباشر. تتطور المراحل المختلفة داخل الخلايا في الخلايا الظهارية المعوية. تظهر بويضات كريبتوسبورديوم بارفوم مقاومة عالية لمعظم المطهرات الكيميائية ، كما تفعل معالجات المياه التقليدية (الترشيح والكلور). داء الكريبتوسبورديوس هو مرض حيواني المنشأ عالمي ينتقل عن طريق البراز الفموي ، وهو مسؤول عن علاج الإسهال تلقائيًا في المرضى ذوي الكفاءة المناعية ، والإسهال المزمن الشديد في المرضى الذين يعانون من نقص المناعة. خيارات العلاج لداء خفيات الأبواغ محدودة حاليًا في غياب دواء قادر على القضاء على الطفيل. يعتمد تشخيص داء الكريبتوسبورديوس على دليل وجود تكيسات بيضية في البراز والماء. الوقاية من خفيات الأبواغ هي منع فردي وجماعي ، يعتمد على الغذاء والنظافة الشخصية وحماية موارد المياه من التلوث البيئي من أصل بشري. خلال هذه الدراسة مكرسة لبحوث كريبتوسبورديوم بارفوم في نقاط المياه المختلفة في منطقة قالمة. من بين 17 عينة من المياه التي تمت تصفيتها بتقنية الترشيح متنوعة بتقنية التركيز والملطخة بصبغة زيل-نيلسون المعدلة ، لم نؤكد وجود هذا الطفيل في مياه قالمة. موضحا بالتالي استمرار هذه الدراسة.

**الكلمات المفتاحية:** كريبتوسبورديوم بارفوم ، ماء ، كريبتوسبورديوسيس ، قالمة ، صبغة زيل-نيلسون.